

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**Einfluss repetitiver postprandialer
Hyperglykämien auf den kardialen Ischämie-
und Reperfusionsschaden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Inka Lena Elbing
aus Essen

Würzburg, im Dezember 2007

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. S. Frantz

Koreferent: Prof. Dr. med. G. Ertl

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Februar 2008

Die Promovendin ist Ärztin.

Inhaltsverzeichnis

1.	EINLEITUNG	1
2.	GRUNDLAGEN	3
2.1.	Diabetes mellitus	3
2.1.1.	Definition, Epidemiologie und Diagnose	3
2.1.2.	Pathophysiologie des Typ 2 Diabetes.....	5
2.2.	Der orale Glukosetoleranztest	8
2.3.	Gestörte Glukosetoleranz (IGT, impaired glucose tolerance).....	9
2.4.	Postprandiale Hyperglykämie.....	10
2.5.	Myokardinfarkt und kardiovaskuläres Risiko	12
2.5.1.	Definition und Epidemiologie	12
2.5.2.	Pathophysiologie des Myokardinfarktes	13
2.5.3.	Diagnose bei Diabetikern mit Koronarsyndrom.....	14
2.5.4.	Therapieansätze	16
2.6.	Myokardiale Nekrose	17
2.7.	Myokardialer Reperfusionsschaden	18
2.7.1.	Pathophysiologie des myokardialen Reperfusionsschadens	19
2.7.1.1.	Bedeutung des oxidativen Stresses.....	19
2.7.1.2.	Infiltration neutrophiler Granulozyten.....	21
2.7.1.3.	Lipidperoxidation	23
2.8.	Therapieoption: α - Glucosidase – Inhibitor	24
2.8.1.	Wirkmechanismus	24
2.8.2.	Wirkungen einer Acarbose-Behandlung	26
2.8.3.	Verstoffwechslung und Nebenwirkungsprofil.....	27
2.8.4.	Wann empfiehlt sich die Therapie mit Acarbose ?.....	28
2.9.	Tiermodell	29
2.10.	Fragestellung	30
3.	MATERIAL UND METHODEN	31
3.1.	Versuchstiere und Haltungsbedingungen	31
3.2.	Dosierung der Substanzen	31
3.3.	Versuchsmodell	32

INHALTSVERZEICHNIS

3.3.1.	Allgemeiner Versuchsablauf	32
3.3.2.	Gruppenzusammensetzung	33
3.4.	Organpräparation	34
3.4.1.	Ischämie und Reperfusion	34
3.4.2.	Herzentnahme und Färbung der Herzen	35
3.4.3.	Area at risk (AAR) und Infarktgröße	37
3.5.	Herzaufbereitung für immunhistochemische Untersuchungen	38
3.5.1.	Myeloperoxidase - Aktivität	38
3.5.2.	Herzhistologie - Immunhistochemie	39
3.6.	Erfassung biochemischer Parameter	40
3.6.1.	Glukosebestimmung im Plasma	40
3.6.2.	Messung der Lipidperoxidation	40
3.7.	Statistik	42
4.	ERGEBNISSE	43
4.1.	Blutglukose	43
4.2.	Area at risk und Infarktgröße	43
4.3.	Neutrophile Granulozyten	45
4.4.	Oxidativer Stress	46
5.	DISKUSSION	47
5.1.	Effekte von Acarbose	47
5.2.	Hyperglykämie und Ischämie - und Reperfusionsschaden	48
5.3.	Infarktgrößenbeeinflussung durch neutrophile Granulozyten	51
5.4.	Beeinflussung der Infarktgröße durch oxidativen Stress	52
5.5.	Klinische Auswirkung	54
6.	ZUSAMMENFASSUNG	56
7.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	57
8.	LITERATURVERZEICHNIS	59

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Der orale Glukosetoleranztest	8
Abbildung 2:	Vaskuläre Effekte der postprandialen Hyperglykämie.....	10
Abbildung 3:	Saccharose	24
Abbildung 4:	α - Glucosidase - Inhibitor Acarbose	24
Abbildung 5:	Resorption von Glukose aus dem Dünndarm	25
Abbildung 6:	Nebenwirkungsprofil von Acarbose	27
Abbildung 7:	Schematische Übersicht des Versuchablaufes.....	32
Abbildung 8:	Malondialdehyd	41
Abbildung 9:	Serumglukose-Spiegel	43
Abbildung 10:	Infarktgröße / Risikoareal.....	44
Abbildung 11:	Oxidativer Stress	46
Abbildung 12:	Korrelation von Glukosespiegel und kardiovaskulärem Risiko.	49
Abbildung 13:	Folgen postprandialer Hyperglykämie	53
Abbildung 14:	Risikoreduktion eines kardiovaskulären Ereignisses	54

1. EINLEITUNG

Weltweit wächst der Anteil der an Diabetes erkrankten Bevölkerung immer weiter an. Besonders mit zunehmendem Alter steigt die Anzahl der an Diabetes erkrankten Patienten. Dabei nehmen die Prävalenz und Inzidenz des Diabetes mellitus, sowohl in den Industrienationen, als auch in den Entwicklungsländern rapide zu. Die Therapie dieser chronischen Erkrankung gehört zu den kostenintensivsten Behandlungen in der heutigen Zeit¹. Die hohen Kosten setzen sich aus der Behandlung der Primärerkrankung und den Folge- oder Begleiterkrankungen zusammen.

Das Auftreten von Folgekrankheiten ist allen Diabetesformen, auf die im Folgenden noch weiter eingegangen werden soll, gemeinsam. Der Häufigkeit entsprechend, stehen hierbei die Mikroangiopathie der Augen, der Nieren und des peripheren Nervensystems im Vordergrund. Parallel hierzu fällt ebenso ein beschleunigter Verlauf oder ein vorzeitiges Auftreten der nicht Diabetes-spezifischen Makroangiopathie auf, im Sinne einer erhöhten Prävalenz der koronaren Herzkrankheit (KHK) und einem im Vergleich zu stoffwechselgesunden Personen insgesamt deutlich erhöhten kardiovaskulären Risikos². Obwohl der durch kardiovaskuläre Pathologien begründete Anteil an der Gesamtzahl aller Todesfällen beim Menschen in der westlichen Welt zurzeit langsam abnimmt, steigt er bei Diabetikern überproportional an. So sterben über 75 Prozent der an Diabetes erkrankten Patienten an ischämischen Gefäßkrankheiten.

Die Behandlung des Diabetes erfolgt zunächst mit Diät und im Verlauf mit medikamentösen Maßnahmen. Gemeinsames Ziel ist die Prophylaxe bzw. Verringerung von Spätschäden oder zumindest eine Verlangsamung der Progression, sowie eine Verbesserung des Überlebens. Durch die Ergebnisse der UKPDS-Studie (United Kingdom Prospective Diabetes Study) Ende der 90er Jahre konnte erstmals die Wichtigkeit einer langfristigen guten glykämischen Kontrolle bei Typ 2 Diabetes gezeigt werden³.

Substanzen, welche die intestinale Glukoseresorption hemmen, und somit verhindern, dass es nach einer Nahrungsaufnahme zu einem drastischen Blutglukosespiegelanstieg

kommt, können zur Kontrolle des Glukosehaushaltes beitragen. So führt Acarbose zu einem verlangsamten Abbau von Disacchariden und komplexen Kohlenhydraten im Darm⁴. Da durch diese fehlende Spaltung der Kohlenhydrate auch ihre intestinale Resorption verzögert wird, sinkt der postprandiale Blutzuckerspiegel. In einer Studie zur Prävention des nicht-insulinabhängigen Diabetes mellitus (STOP-NIDDM-Studie) konnte gezeigt werden, dass ein positiver Effekt durch Acarbose bereits bei Patienten in einem prädiabetischen Stadium, der eingeschränkten Glukosetoleranz (IGT), erzielt werden kann. In dieser doppelblind placebokontrolliert durchgeführten prospektiven Studie führte die Behandlung mit Acarbose nicht nur zu einer Reduktion der Progression von Diabetes, sondern auch zu verminderten kardiovaskulären Ereignissen⁵.

2. GRUNDLAGEN

2.1. Diabetes mellitus

2.1.1. Definition, Epidemiologie und Diagnose

Der Diabetes mellitus ist eine komplexe Stoffwechselerkrankung multifaktorieller Genese, welche durch einen absoluten oder einen relativen Mangel an Insulin definiert ist, wodurch es zu einer Zunahme der Plasmaglukosekonzentration kommt. Namensgebend für die Erkrankung war der süßliche Geschmack des Urins, welcher auf Grund der überschrittenen Rückresorptionsfähigkeit der Nieren für Glukose auftritt.

Zurückführend auf unterschiedliche Verlaufsmöglichkeiten und Ursachen wird der Diabetes mellitus in mehrere Typen eingeteilt⁶. Das gemeinsame Charakteristikum dieser verschiedenen Formen ist die Hyperglykämie, die als diagnostisches Kriterium von der World Health Organisation (WHO)⁷ und der American Diabetes Association (ADA)⁶ festgelegt wurde. Sie ist durch Werte sowohl im Nüchternzustand (Plasmaglukose venös / kapillär > 126 mg/dl oder > 7,0 mmol/l) als auch postprandial (75g oGTT: 2h > 200 mg/dl oder > 11,1 mmol/l) fest definiert. Bemerkenswerterweise befindet sich der menschliche Organismus mindestens 50 Prozent des Tages in einem postprandialen Zustand, da die Resorption von Nahrung zwischen fünf und acht Stunden beansprucht. Deshalb ist der postprandiale Zustand eine wichtige Komponente der Hyperglykämie bei Diabetikern und trägt in hohem Maße zu den assoziierbaren Folgekrankheiten bei.

Folgende Diabetesformen mit ihren jeweils im Vordergrund stehenden pathophysiologischen Mechanismen werden unterschieden:

Typ 1 Diabetes

Die ätiologische Basis sind Autoimmunreaktionen, welche zu einem Versagen der Insulinsekretion in den β - Zellen des Pankreas führen, weswegen häufig ein absoluter Insulinmangel vorliegt. Therapeutisch muss dieser durch exogene Zufuhr von Insulin ersetzt werden.

Typ 2 Diabetes

Dies ist mit 90 Prozent Anteil aller Diabetesfälle weltweit die häufigste Form und lässt sich ebenfalls auf genetische Dispositionen zurückführen. Pathophysiologisch entscheidend sind Insulinresistenz und Insulinsekretionsstörungen. Eine verminderte Insulinsekretion reduziert die Insulinsignaltransduktion in den peripheren, insulinsensitiven Gewebetypen. Die Insulinresistenz der Gewebe wiederum führt zu einer abgeschwächten Insulinwirkung mit einer gesteigerten Fettsäure- und Glukosekonzentration im Blut durch ungehemmte hepatische Glukoseproduktion und verminderte Aufnahme der Glukose in die Skelettmuskeln. Die dadurch erhöhten Plasmakonzentrationen von Glukose und Fettsäuren verschlechtern wiederum selbst die Insulinsekretion und -sensitivität im Sinne eines Circulus vitiosus. Häufig tritt der Typ 2 Diabetes im Gefolge einer Adipositas auf, welche in der hierbei stattfindenden reichlichen Nahrungszufuhr und der mangelnden Bewegung begründet ist. Die Hyperglykämie der Typ 2 Diabetiker ist primär auf die herabgesetzte Insulinempfindlichkeit zurückzuführen, wobei ein späteres sekundäres β -Zellversagen möglich ist.

Liegt ein relativer Mangel an Insulin vor, ist eine therapeutische exogene Zufuhr nicht immer notwendig. Zunächst besteht eine oftmals ausreichende Therapieoption mit Diät und oralen Antidiabetika.

andere spezifische Diabetes Typen

Hierunter wird eine Gruppe zusammengefasst, zu welcher der MODY - Diabetes (maturity onset diabetes of the young) gehört. Es handelt sich hierbei um eine genetische Störung der β - Zellfunktion, bei dem eine familiäre Häufung auffällt. Ebenso können Diabetes Typen mit genetischen Defekten, durch welche eine fehlerhafte Insulinwirkung resultiert, vorliegen. Auch der pankreoprive Diabetes bei endokriner Pankreasinsuffizienz nach Pankreatitis oder Pankreasresektion fällt in diese Kategorie. Weiterhin kann ein Diabetes durch Medikamente wie Glukokortikoide oder durch das Überwiegen kontrainsulinärer Hormone wie Cortisol und Katecholaminen bei Cushing-Syndrom oder Akromegalie induziert werden. Diese Gruppe ist insgesamt in der

Symptomatik vielseitig, der Anteil an der Gesamtzahl der Diabetiker ist aber sehr gering.

Gestationsdiabetes

Diese Form der schwangerschaftsinduzierten Insulinresistenz und reduzierten Insulinsekretionskapazität manifestiert sich erstmals während der Schwangerschaft, wobei sich bei den meisten Patientinnen die gestörte Glukosetoleranz nach der Geburt wieder zurück bildet. Es kann allerdings zu pränatalen Entwicklungsstörungen kommen und das Risiko für Makrosomie, Geburtstraumen und perinatale Morbidität ist erhöht.

Die größte Bedeutung kommt dem Typ 1 und dem Typ 2 Diabetes zu, wobei die Prävalenz in Deutschland 5 - 8 Prozent in der Gesamtbevölkerung beträgt⁸. Hiervon entfallen wiederum etwa 90 Prozent auf den Typ 2 Diabetes. Die Auswertung epidemiologischer Daten von Diabetespatienten über dem 20. Lebensjahr aus der ganzen Welt erbrachte, dass die Prävalenz von 1995 mit 4,0 Prozent bis zum Jahre 2025 auf 5,4 Prozent steigen wird. Dies bedeutet einen Anstieg der Patientenzahlen von 135 Millionen auf 300 Millionen¹. Der größte Zuwachs findet sich derzeit in den Entwicklungsländern. In den Industrieländern sind mehr Frauen als Männer betroffen, wobei besonders in den Städten eine Zunahme erwartet wird.

2.1.2. Pathophysiologie des Typ 2 Diabetes

Meistens beginnt der Typ 2 Diabetes mit einer abnehmenden Insulinempfindlichkeit, wodurch viele Körperzellen nicht mehr in der Lage sind, auf die Insulinsekretion im erforderlichen Maße zu reagieren. Betroffen sind sowohl Skelettmuskel-, Fettgewebs-, als auch Leberzellen. Daher wird Glukose unzureichend aus dem Blut resorbiert, die Glykolyse in der Leber läuft uneingeschränkt ab und die Sekretion des Insulin-Gegenspielers Glukagon ist vermindert. Die Insulinresistenz wird manifest, wenn eine physiologische Insulinkonzentration nicht ausreicht, die Stoffwechselvorgänge im Organismus zu steuern⁹. Die muskuläre Insulinresistenz kann der klinischen Manifestation des Typ 2 Diabetes um bis zu 30 Jahre vorausgehen und kennzeichnet das

Stadium des Prädiabetes¹⁰. Ursächlich für die Insulinresistenz wird auch eine Beteiligung von Lipiden diskutiert^{11,12}.

Bei weiterem Fortschreiten der beginnenden Erkrankung folgt die Phase der gestörten Glukosetoleranz, Impaired Glucose Tolerance (IGT), bei welcher schon eine Dekompensation der pankreatischen β - Zellen vorliegt. Zunächst kommt es zu einer kompensatorischen Hyperinsulinämie, bei welcher der Körper versucht, das ursprüngliche glykämische Gleichgewicht wieder herzustellen. Jedoch ist die Möglichkeit einer pankreatischen Kompensation begrenzt und es kommt bei anhaltend hohen Blutzuckerspiegeln nach variablen Zeiträumen zum Erliegen der Insulinproduktion in den β - Zellen. Bei IGT fällt nach dem oralen Glukosetoleranztest (oGTT) eine Hyperglykämie auf, obwohl im Alltag euglykämische Werte dominieren¹³. Die IGT stellt einen erheblichen Risikofaktor dar, denn 40 Prozent der betroffenen Patienten entwickeln innerhalb von 5 - 10 Jahren einen manifesten Diabetes mellitus Typ 2¹⁴.

Außerdem weisen Patienten mit IGT bereits ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von mikro- und makrovaskulären Schäden auf. Chronische Schäden verschiedener Organsysteme können sich ebenfalls schon in der prädiabetischen Phase mit muskulärer Insulinresistenz und veränderter Insulinsekretionskinetik des Pankreas ausbilden. Es resultieren wie beim manifesten Diabetes mellitus eine mangelhafte periphere Glukoseverwertung und eine gesteigerte Glukoneogenese.

Die Hyperglykämie führt zu einer nichtenzymatischen Glykosylierung von Proteinen, welche daraufhin in ihrer Funktion geändert sind. Weiterhin bleibt eine Hemmung der Induktion von glukoneogenetischen Schlüsselenzymen aus. In der Leber fehlt zudem die Induktion von Insulin auf die Schlüsselenzyme der Glykolyse wie die Glukokinase, Phosphofruktokinase-1 und Pyruvatkinase.

Auch auf den Fettstoffwechsel nimmt die Erkrankung Einfluss, da Insulin das einzige Enzym ist, welches anti-lipolytisch wirkt. Bei Insulinmangel fehlt folglich die Lipolysehemmung und es kommt zu einem Anstieg von freien Fettsäuren im Serum.

Auch die Synthese von Triglyceriden im Fettgewebe ist durch das Fehlen von α - Glycerolphosphat beeinträchtigt, wodurch sich die Konzentration freier Fettsäuren im Serum zusätzlich erhöht. Bei unbehandeltem Diabetes ist im Allgemeinen auch die Cholesterinsynthese gesteigert. Aus dem Überangebot freier Fettsäuren und Acetyl-CoA bilden sich vermehrt Ketonkörper (β - Hydroxybuttersäure, Aceton und Acetessigsäure), welche nur teilweise entfernt oder umgewandelt werden können und sich daher im Körper anreichern.

2.2. Der orale Glukosetoleranztest

Bei Gesunden wird der Blutzucker durch die Hormone Glukagon und Insulin, welche auf dem Blutweg an die am Kohlenhydratumsatz beteiligten Gewebe herangebracht werden, stets in engen Grenzen gehalten. Auf diese Weise werden sowohl Unterzuckerungen mit der Gefahr des Coma hypoglycæmicum als auch Blutzuckererhöhungen, die mit allen zuvor erwähnten kardiovaskulären Risiken einhergehen, vermieden.

Da die Reaktion des Blutzuckers auf eine Kohlenhydratbelastung so zuverlässig ist, wird sie als Grundlage von Suchtests nach Stoffwechselstörungen in Form von Glukosetoleranztests eingesetzt. Bei diesem oralen Glukosetoleranztest (oGTT) wird der Proband mit 75 g Glukose per os belastet. Zunächst kommt es zu einem raschen Anstieg der Blutglukose innerhalb der ersten 30 Minuten, danach setzt die Gegenregulation ein und spätestens 2 Stunden nach Beginn der Belastung stellt sich beim Gesunden eine weitgehende Normalisierung des Blutzuckers ein. Bei Störungen des Glukosestoffwechsels fällt neben einem steileren Anstieg und höheren Absolutwerten des Blutzuckers in der ersten Phase der Belastung ein verzögerter Abfall auf.

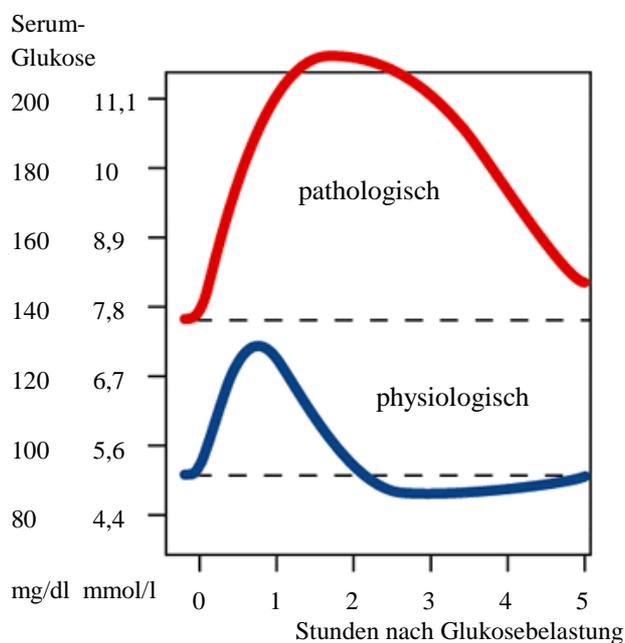


Abbildung 1: Der orale Glukosetoleranztest¹⁵

2-Stunden-Werte: IGT: > 7,8 mmol/l und <11,1mmol/l; D.m.: > 11,1mmol/l

2.3. Gestörte Glukosetoleranz (IGT, impaired glucose tolerance)

Wie erwähnt, steigt die kardiovaskuläre Gefährdung der Patienten bereits im Stadium der gestörten Glukosetoleranz (IGT). Es sind hierbei erhöhte postprandiale Blutzuckerkonzentrationen messbar, wie der pathologische Zwei-Stunden-Blutglukosewert im Rahmen des oralen Glukosetoleranztestes. Zurückzuführen ist dieser Vorgang auf eine verminderte Insulinsensitivität, so dass die Glukose postprandial zunächst leicht erhöht ist. Die β - Zelle sezerniert vermehrt Insulin und es kommt zu einer kompensatorischen Hyperinsulinämie. Diese induziert aber letztendlich eine Insulinsignaltransduktionsstörung, weshalb sich die Insulinresistenz wieder verschlechtert. Es entsteht ein *circulus vitiosus*, der so lange aufrechterhalten wird, bis Insulin nicht mehr adäquat sezerniert werden kann. Insgesamt ist der Nüchternblutzucker währenddessen noch im Normbereich und die Kriterien für die Diagnose eines Diabetes mellitus sind nicht erfüllt.

Eine gestörte Glukosetoleranz ist in der Bevölkerung weit verbreitet, wird jedoch oftmals nicht diagnostiziert und therapiert. Sie wird nicht nur über den oralen Glukosetoleranztest postprandial definiert, sondern auch über den Blutzucker im Nüchternzustand. Hierfür wurde der Begriff der gestörten Nüchternblutglukose, *impaired fasting glucose (IFG)*, eingeführt, welche definitionsgemäß bei Werten zwischen 6,1 mmol/l und 7,0 mmol/l (110 und 126 mg/dl) vorliegt. Da nicht alle Personen mit einer moderaten Glukosetoleranzstörung einen manifesten Diabetes entwickeln, kann diese Personengruppe nicht als Diabetiker klassifiziert werden. Die erhöhte Prävalenz dieser Gruppe, arteriosklerotische Erkrankungen zu erleiden, sowie ein Zusammenhang mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie arterieller Hypertonie, Hyperlipidämie oder Adipositas konnten bereits gezeigt werden. Insgesamt weisen in der europäischen Bevölkerung 13 - 19 Prozent eine IGT auf und bei 4 - 8 Prozent liegt ein nicht bekannter Diabetes mellitus vor¹⁶. Für die neu diagnostizierte gestörte Glukosetoleranz wurde belegt, dass in 1,5 bis 7 Prozent pro Jahr ein Progress zu einem manifesten Diabetes stattfindet¹⁷.

2.4. Postprandiale Hyperglykämie

Bis vor wenigen Jahren hat man dem erhöhten Blutzuckeranstieg des Diabetikers direkt nach dem Essen wenig Bedeutung beigemessen. Als Richtlinie der guten Einstellung galt hauptsächlich das Glykohämoglobin (HbA1c). In letzter Zeit konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass die postprandiale Hyperglykämie ausschlaggebend ist für das Entstehen von Folgeschäden und kardiovaskuläres Risiko. Unter anderem kommt es zu einer Erhöhung des oxidativen Stresses, zu Veränderungen des Blutflusses und zu einer Erhöhung des Blutdrucks, welche sich synergistisch auf das Infarktrisiko auswirken.

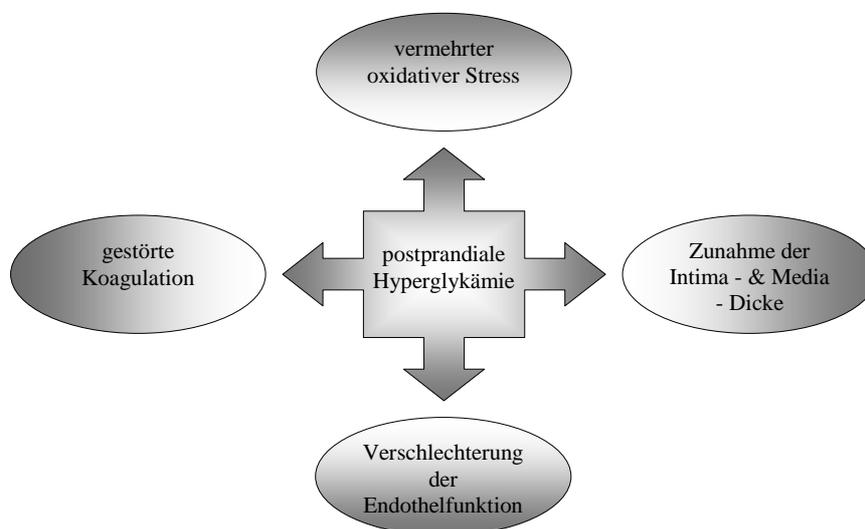


Abbildung 2: Vaskuläre Effekte der postprandialen Hyperglykämie

Außerdem führen erhöhte Glukosespiegel zu einer Glykosylierung von LDL, welches wiederum leichter von Makrophagen aufgenommen werden kann, und die Entstehung der Arteriosklerose fördert. Durch eine Glykosylierung von HDL sinkt die Cholesterin-Transportaktivität, wodurch die anfallenden Cholesterinkristalle zu einer weiteren Progredienz der Erkrankung führen. Die Glykosylierung von endothelialen Funktionsproteinen führt zu einer verminderten NO-Freisetzung und somit zu einer weiteren Einschränkung der Vasodilatationsfähigkeit. Auch fielen bei Patienten und Versuchstieren mit gestörter Glukosetoleranz eine erhöhte Neigung zur Thrombozytenaktivierung und Thrombin-Produktion, sowie ein dadurch verminderter

Fibrinogen-Abbau auf, und führten zu einer gesteigerten Koagulation mit konsekutiver, zu Verlegung der Koronargefäße neigender Thrombenbildung.

2.5. Myokardinfarkt und kardiovaskuläres Risiko

2.5.1. Definition und Epidemiologie

Die Patientengruppe der Typ 2 Diabetiker weist ein deutlich erhöhtes kardiovaskuläres Risiko auf. Bis zu 75 Prozent ihrer Hospitalisationen sind auf kardiovaskuläre Ursachen zurückzuführen und nahezu zwei Drittel der Patienten versterben nicht an ihrem Diabetes, sondern an dessen Folgen für das Herz- und Gefäßsystem. Im Gegensatz zur Mortalität infolge kardiovaskulärer und malignombedingter Erkrankungen hat die altersadjustierte Mortalität des Diabetes während der vergangenen zwei Dekaden deutlich zugenommen.

Der Myokardinfarkt ist definiert als ein regionaler Untergang von Myokardgewebe auf Grund einer Ischämie, die durch die Verlegung eines Koronargefäßastes zu Stande kommt. Zurückzuführen ist diese Verlegung auf eine akute Unterbrechung des Blutflusses durch einen Thrombus, welcher sich nach einer Gefäßläsion und Koronararteriosklerose entwickelt. Ein akuter Koronarverschluss bedingt nach mehr 15 - 20 Minuten irreversible Myokardzellnekrosen¹⁸. Weitere seltenere Ursachen für einen Verschluss sind eine Koronararterienembolie, Vaskulitiden der Koronargefäße, Koronarspasmen und Fehlbildungen.

Zu den klassischen Hauptrisikofaktoren, die auch eine vorzeitige Arteriosklerose auslösen, zählen Nikotinkonsum, arterieller Hypertonus, Hyperlipidämie, insbesondere die LDL-Hypercholesterinämie, familiäre Disposition und als der wichtigste Risikofaktor der Diabetes mellitus. Mit diesen konventionellen Risikofaktoren können über 80 Prozent aller kardiovaskulären Ereignisse erklärt werden. Die KHK ist demnach eine zu großem Anteil vermeidbare Erkrankung¹⁹. Obwohl gerade der Diabetes mellitus Typ 2 häufig in Addition mit anderen kardiovaskulären Risikofaktoren, wie der Dyslipidämie und dem Hypertonus, auftritt, ist anzunehmen, dass auch die alleinige Hyperglykämie selbst einen unabhängigen Risikofaktor darstellt.

Die Inzidenz der Myokardinfarkte in Deutschland beläuft sich auf etwa 300 pro 100.000 Einwohner pro Jahr, die Lebenszeitprävalenz beträgt in Deutschland für Männer fast 30

Prozent, für Frauen etwa 15 Prozent. Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes gehören kardiovaskuläre Erkrankungen mit 40 bis 50 Prozent aller Todesfälle zu der Haupttodesursache²⁰. Im Vergleich zu der nichtdiabetischen Bevölkerung ist für diese Patientengruppe das Mortalitätsrisiko für koronare, zerebrale und periphere Gefäßerkrankungen auf das zwei- bis dreifache erhöht^{21,22,23}. Anteilsmäßig sind Diabetiker häufiger in der Patientengruppe mit akuten Koronarsyndromen zu finden als in der mit stabiler koronarer Herzkrankheit. Von Bedeutung ist, dass die Mortalität bei Diabetikern mit akutem ST-Hebungsinfarkt und Nicht-ST-Hebungsinfarkt fast doppelt so hoch ausfällt, wie bei Nicht-Diabetikern²⁴. Diesem prognostischen Nachteil steht ein höherer Nutzen einer adäquaten medikamentösen Therapie gegenüber. Das kardiovaskuläre Risiko kann durch eine konsequent durchgeführte Behandlung der Risikofaktoren gesenkt werden.

2.5.2. Pathophysiologie des Myokardinfarktes

Jede der verschiedenen Arten der akuten Unterbrechung des koronaren Blutflusses führt zu einer lokalen Stoffwechselstörung, welche eine umschriebene, auf das durch die betroffene Arterie versorgte Areal begrenzte, Myokardgewebsnekrose zur Folge hat. Hierfür sind die folgenden zwei Mechanismen verantwortlich: zum einen führt das Sistieren der Sauerstoffversorgung zur Einstellung der energieliefernden ATP-Produktion, zum anderen verhindert die durch den Gefäßverschluss bedingte Minderperfusion den Abtransport schädlicher azidotischer und osmotisch wirksamer zellulärer Abfallprodukte. Bei andauernder Myokardischämie breitet sich die Nekrose von der am stärksten von der Ischämie betroffenen subendokardialen Schicht nach lateral und subperikardial in die weniger stark ischämischen Bereiche in der Nähe des Gefäßes aus.

Mit dem Sauerstoffmangel kommt es durch Ionen- und Osmolaritätsverteilungsstörungen zunächst zu reversiblen Schädigungen, später zu irreversiblen Nekrosen der Herzmuskelzellen, die bereits nach 15 - 20 Minuten zu registrieren sind¹⁸. Durch eine Reperfusion bei Wiedereröffnung des Gefäßverschlusses,

sei es durch Fibrinolyse oder Koronarintervention, wird versucht, das hypoxische Gewebe wieder mit Sauerstoff zu versorgen und die zytotoxischen Stoffwechselzwischen- und Stoffwechselendprodukte auszuschwemmen.

Die Ausdehnung des Infarktareals setzt sich aus verschiedenen Faktoren zusammen. Einerseits korreliert sie mit dem Versorgungsterritorium des verschlossenen Gefäßes, der Dauer und der Vollständigkeit des Verschlusses, andererseits mit der Anzahl und Suffizienz der gebildeten Kollateralgefäße und der aktuellen hämodynamischen Situation, insbesondere der Herzfrequenz. Des Weiteren spielen der Sauerstoffbedarf des betroffenen Areals, individuelle Schwankungen in Bezug auf die Verhältnisse der Gerinnungs- und Lysefaktoren und die Herzmuskeldurchblutung im Infarktareal nach Reperfusion eine Rolle. Der Infarkt bildet sich bei verschiedenen Spezies unterschiedlich schnell aus. Die Infarktausbreitung beim Menschen über Stunden, weswegen auch durch frühzeitige interventionelle Reperfusion Myokard vor der irreversiblen Nekrose gerettet werden kann²⁵. Um beim Menschen eine erfolgreiche Reperfusion zu erreichen, sollte eine Frist von 6 Stunden eingehalten werden²⁶, allerdings werden erheblich bessere Überlebenszeiten erzielt, wenn für eine Lyse eine Tür-zu-Nadel-Zeit von 30 Minuten und für eine PTCA eine Tür-zum-Ballon-Zeit von 90 Minuten eingehalten werden²⁷.

2.5.3. Diagnose bei Diabetikern mit Koronarsyndrom

Das kardiale diagnostische Vorgehen bei Diabetikern und bei Nichtdiabetikern entspricht sich grundsätzlich. Allerdings muss beachtet werden, dass die Aussagekraft der nicht invasiven diagnostischen Methoden beim Diabetiker im Vergleich zu den Nichtdiabetikern eingeschränkt ist. So zeigen beispielsweise Tests wie die Thallium-Szintigraphie und das Belastungs-EKG häufig falsch positive Ergebnisse.

Diabetiker weisen im Vergleich zu Nichtdiabetikern eine höhere Anzahl von Koronarläsionen und signifikanten Stenosen, erhöhte Inzidenzen für Herzinsuffizienz, arterielle Hypertonie und vorausgegangene Myokardinfarkte auf. Typischerweise sind

Typ 1 Diabetiker jünger, haben einen länger bestehenden Diabetes und erhöhte Kreatininwerte, verglichen mit Typ 2 Diabetikern.

2.5.4. Therapieansätze

Gängige therapeutische Verfahren zur Wiederherstellung eines adäquaten Blutflusses in minderperfundierten oder verschlossenen Koronargefäßen sind die thrombolytische Therapie, die aortocoronare Venenbypass (ACVB) - Operation oder die Perkutane Transluminare coronare Angioplastie (PTCA). Diabetiker mit akutem Koronarsyndrom profitieren nach der TACTICS-Studie (Treat Angina with Agravastat and Determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservative Strategy) ganz besonders von einem invasiven Vorgehen²⁸. Aus diesem Grund sollte bei Diabetikern bereits bei den geringsten Anzeichen einer kardialen Ischämie die frühinvasive Diagnostik und gegebenenfalls die Behandlung angestrebt werden.

Präventiv sollten durch eine aggressive Therapie die studientechnisch ermittelten Zielwerte in der Behandlung von Diabetes, Dyslipidämie und Hypertonie konsequent angestrebt werden^{29,30}.

Wie ausschlaggebend eine ausgeglichene Stoffwechsellage ist, stellte sich in der DIGAMI-Studie (Diabetes Insulin-Glukose Infusion in Acute Myocardial Infarction) heraus³¹. Bei Diabetikern mit akutem Myokardinfarkt besserte sich die Prognose deutlich unter rasch erreichter Normoglykämie. Aus diesem Grund sollte bei Diabetikern nach einem akuten Herzinfarkt möglichst schnell eine Einstellung auf euglykämie Werte initiiert werden.

2.6. Myokardiale Nekrose

Sind die Durchblutung und somit die Sauerstoffversorgung eines bestimmten Herzmuskelgebietes gestört, kann sich je nach Ausmaß dieser Ischämie eine myokardiale Nekrose entwickeln.

Zunächst kommt es im ischämischen Gebiet zum Verlust des zellulären Energiegleichgewichtes. Kann der Energiebedarf der Zelle nicht mehr gedeckt werden, treten Störungen in ATP-abhängigen Zellsystemen wie den transmembranären Iontentransportern auf. Daraus resultiert eine reversible Störung der Kalziumhomöostase, welche Kontraktions- und Relaxationsstörungen der Myofibrillen bedingt. Wird diese pathologische Situation des Zellstoffwechsels nicht unterbunden, werden die Zellen irreversibel gestört. Durch Umstellung des oxidativen zellulären Stoffwechsels auf den anaeroben Glukoseabbau kommt es aufgrund des anfallenden Laktats zu einer Gewebeazidose. Dadurch wird die Membranintegrität geschädigt, so dass es zu einem Ionen- und Flüssigkeitseinstrom in die Zellen kommt³². Auf Grund des verloren gegangenen osmotischen Gleichgewichtes schwellen die Myozyten an. Bei einer zu massiven Schwellung rupturieren die Zellen, wobei lysosomale Enzyme freigesetzt werden. In der Folge kommt es zu einer Entzündungsreaktion, durch welche eine fortdauernde Schädigung der Zellen aufrechterhalten wird³³. Dabei können im ischämischen Myokard sowohl reversibel als auch irreversibel geschädigte Myozyten vorliegen. Tritt rechtzeitig eine Wiederdurchblutung, auch Reperfusion genannt, des ischämischen Gewebes ein, können sich die reversibel geschädigten Myozyten erholen. Der Nekrosebereich bleibt dann auf die irreversibel geschädigten Zellen beschränkt. Das Ausmaß des Nekrosebereiches ist, wie oben bereits erwähnt, dementsprechend abhängig von der Dauer der Ischämie, der Toleranz des Gewebes gegenüber dem Sauerstoffmangel und der lokalen Gefäßversorgung.

2.7. Myokardialer Reperfusionsschaden

Der Grundgedanke der Reperfusion ist, dass durch schnelles Wiederherstellen eines suffizienten Blutflusses in den Koronarien die Versorgung des dahinterliegenden hypoxischen Gewebes mit Sauerstoff wieder ermöglicht wird. Eine früheinsetzende Reperfusion ist unabdingbar für das postischämische Überleben des myokardialen Gewebes, da sie die einzige Maßnahme ist, durch die eine Nekrose verhindert werden kann. Nach Reperfusion müssen der Nährstoff- und Sauerstofftransport sowie der Schadstoffabtransport und die endokrine Signalweitergabe zum Erhalt des Gewebes wieder aufgenommen werden. Diese Reperfusion nach einer Ischämie kann auch ohne therapeutische Intervention spontan auftreten, beispielsweise am Herzen bei dem Krankheitsbild des Koronarspasmus oder im Gehirn bei der Transitorisch ischämischen Attacke (TIA).

Allerdings geht das Reperfusionseignis mit gewebeschädigenden Effekten einher, welche deutlich über das ischämiebedingte Ausmaß des Funktionsverlustes hinausgehen. Diese negativen Effekte sind zum größten Teil auf die akute Phase zurückzuführen, in der ein extremer Anstieg reaktiver Sauerstoffverbindungen, auch genannt reactive oxygen species (ROS) stattfindet. Dadurch wird eine direkte Gewebeerstörung durch Interaktionen zwischen Proteinen, Kohlenhydraten, Lipiden und DNS ausgelöst. Letztendlich resultieren entzündliche Reaktionen und weitere Schäden. Für dieses Phänomen wurde der Begriff des Reperfusionsschadens eingeführt³⁴. Eine der ersten Beschreibungen dieses komplexen Phänomens ist auf das Jahr 1935 datiert³⁵ und konnte in der Folgezeit an diversen weiteren Organen nachgewiesen werden.

Das Ausmaß des Reperfusionsschadens lässt sich, egal in welchem Kontext die Reperfusion abläuft, nicht vorhersagen. Deshalb muss das Risiko einer zusätzlichen Schädigung bei jeder geplanten therapeutischen Revaskularisierung bedacht werden. Die Unterscheidung, inwieweit eine Gewebsschädigung durch die Reperfusion oder durch die eigentliche Ischämie entsteht, ist sowohl in der Versuchsanordnung, als auch in der Klinik sehr schwierig. Ebenso bleibt zu klären, ob der Reperfusionsschaden nach

einem eigenständigen Prinzip abläuft, oder ob die ischämiebedingten gewebeschädigenden Prozesse weitergeführt und verstärkt werden³⁶.

2.7.1. Pathophysiologie des myokardialen Reperfusionsschadens

2.7.1.1. Bedeutung des oxidativen Stresses

Der genaue Prozess, der den post-ischämischen Reperfusionsschäden zugrunde liegt, ist im Einzelnen noch nicht abschließend geklärt. Fest steht, dass bei Wiederherstellung der Sauerstoffzufuhr durch Reperfusion im zuvor ischämischen Myokard große Mengen an Sauerstoffradikalen in den Myozyten und den infiltrierenden Leukozyten entstehen³⁷. Ein Teil der schädigenden Ursachen kann diesen reaktiven Sauerstoffverbindungen unter anderem Superoxidanionen und Wasserstoffperoxid zugeschrieben werden³⁸. Häufig sind die ROS Nebenprodukte des physiologischen Stoffwechsels der Zellen und können auch mit der intrazellulären Signaltransduktion in Wechselwirkung treten³⁹. In physiologischen niedrigen Konzentrationen führen sie zur Aktivierung und Proliferation von Lymphozyten⁴⁰, in pathologisch hohen Konzentrationen zerstören sie allerdings wichtige Zellkomponenten⁴¹. Die hohe chemische Reaktivität ist bedingt durch die spezielle Elektronenkonfiguration der Radikale. Normalerweise liegt in den Zellen ein physiologisches Gleichgewicht zwischen Radikalbildung und Radikalabbau vor. Radikale werden durch spezifische Enzyme wie die Superoxiddismutase, Katalase, oder Glutathionperoxidase umgewandelt oder von Antioxidantien wie α -Tocopherol, β -Karotin und Ascorbinsäure abgefangen.

Bei Störungen dieses Gleichgewichts kommt es sowohl in vitro als auch in vivo durch die Reperfusion zu Radikal-bedingten Schäden⁴². Somit wird der Zelluntergang durch Radikale nach Ischämie und Reperfusion weiter gefördert. Zu den Schäden gehören Strangbrüche der DNS, welche durch Interaktion der DNS mit den Radikalen entstehen, und Zellmembranschädigungen durch Lipidperoxidation. Außerdem führen die durch Radikale in ihrer Struktur geänderten Enzymproteine zu einer erhöhten vaskulären Permeabilität. Es kommt zu Entgleisungen der zellulären Calciumhomöostase sowie zu weiteren elektrophysiologischen Störungen. Die resultierende Natrium- und

Calciumüberladung in den Myokardzellen während der Ischämie führt bei Wiedereinsetzen der Durchblutung und Energieversorgung zu übermäßigen und unkoordinierten Myokardkontraktionen. Zusammen mit der osmotisch bedingten Zellschwellung kommt es so zu irreversiblen Zerreißen der Zellmembranen. Es entstehen im ehemals ischämischen Myokard bei einsetzender Sauerstoffzufuhr große Mengen toxischer Sauerstoffradikale. Im Blut greifen diese freiwerdenden Radikale zirkulierendes LDL an und oxidieren es zu Atherosklerose fördernden Produkten. Zudem inaktivieren sie das im Endothel gebildete Stickstoffmonoxid NO, wodurch das maximale Ausmaß der Koronardilatation und die Hemmung der Thrombozytenaggregation reduziert werden⁴³. Außerdem werden durch Radikale verschiedene Entzündungsmediatoren aus dem Endothel freigesetzt und die Expression von spezifischen endothelialen Adhäsionsmolekülen induziert. Auf diese Weise wird in dem ischämischen Gebiet der Entzündungsprozess aufrechterhalten und sogar noch verstärkt⁴⁴. Bei einsetzender Reperfusion kommt es im betroffenen Gewebe nicht nur zu einer verstärkten Radikalproduktion, sondern auch zu einem Mangel an protektiven Faktoren⁴⁵. Durch die steigende Sauerstoffkonzentration können angestaute Katecholamine und Zellbestandteile plötzlich wieder weiter abgebaut werden, so dass enzymatische Abläufe, wie auch die mitochondriale Atmungskette kurzzeitig in gesteigertem Maße ablaufen.

Die folgenden Gründe legen die Annahme nahe, dass unter anderem reaktive Sauerstoffspezies für die Reperfusionsschäden verantwortlich sind. So sind freie Radikale von Beginn der Reperfusion an im Herzen nachweisbar⁴⁶ und können indirekt durch den Nachweis von Lipid-Peroxidationsprodukten quantifiziert werden. Des Weiteren können durch die exogene Zufuhr radikalbildender Systeme gleichartige Schäden am Herzen provoziert werden. Außerdem haben sich antioxidative Maßnahmen sowohl experimentell, als auch klinisch vielfach als prognostisch positiv erwiesen⁴⁷. Beispielsweise konnten in Katalase- und Superoxiddismutase-überexprimierenden transgenen Mäusen eine verbesserte post-ischämische Kontraktionskraft gefunden und somit der kardioprotektive Effekt durch Antioxidantien belegt werden⁴⁸.

Die schnelle Freisetzung kurzlebiger, oxidativer Radikale in der initialen Phase einer Reperfusion wird als oxidative Burst bezeichnet und kann wie oben bereits erwähnt in vielen Geweben stattfinden. Die Radikalbildung erfolgt letztlich auf Grund des erhöhten Substratangebotes bei Reperfusionsbeginn.

2.7.1.2. Infiltration neutrophiler Granulozyten

Durch die Schädigung der Herzmuskelzellen werden Entzündungsmediatoren aktiviert, welche 10 bis 24 Stunden nach dem Ischämie - Ereignis zur Einwanderung von Entzündungszellen, vor allem neutrophiler Leukozyten aus dem hyperämischen Randsaum führen. Der neutrophile Granulozyt, auch polymorphkerniger Neutrophiler (PMN) genannt, ist ein Mikrophage und unter anderem auch wegen seiner schnellen Verfügbarkeit von wichtiger Funktion bei der Abwehr von Infektionen. Die Zellen sind charakterisiert durch ihren segmentierten Kern und ihre drei Arten zytoplasmatischer Granula, die auf Grund ihres Enzymgehalts große Bedeutung haben. Unter anderem besitzen sie primäre (azidophile) Granula, welche Myeloperoxidase (MPO), Lysozym, und saure Hydrolase enthalten, sowie sekundäre Granula mit alkalischer Phosphatase, Kollagenase und Plasminogenaktivator und tertiäre Granula mit Gelatinase und saurer Hydrolase.

Die Enzyme wirken über die Bildung von Sauerstoffradikalen bei der Elimination von Bakterien mit. Sie können aber auch extrazellulär zur Schädigung in entzündetem Gewebe beitragen. PMNs setzen eine weitere Reihe chemischer Substanzen frei, die entzündungssteigernd wirken. Durch den Abbau von Kollagen, Elastin und Knorpel, bedingt durch die neutralen Proteasen und eine Erhöhung der Gefäßpermeabilität durch kationische Proteine kommt es zu einem Gewebeuntergang. Angelockt und aktiviert werden PMNs durch Komplementfragmente, plättchenaktivierenden Faktor (PAF), Peptide und Lipide. Nachdem die PMNs über Chemotaxis an den ischämischen Ort gelangt sind, wobei die Wanderrichtung in Abhängigkeit des Konzentrationsgradienten des reizauslösenden Faktors bestimmt wird, dienen bestimmte Oberflächenmoleküle der Adhärenz. Diese befinden sich an der Oberfläche der Leukozytenzellmembran und des Venolenendothels und führen über eine Liganden-Rezeptor-Erkennung zu einer

endothelialen Bindung der Leukozyten. Von den Endothelzellen werden P-Selektine teils konstitutiv, teils nach Aktivierung an der Oberfläche freigesetzt oder als E-Selektin neu synthetisiert. Die Leukozyten exprimieren ihrerseits konstitutiv L-Selektin. Über diese Moleküle kommt es zur initialen Adhäsion und zum Abrollen der Leukozyten, dem so genannten "Rolling". Im Anschluss folgen die Aktivierung der Granulozyten und die Synthese weiterer Oberflächenmoleküle. Durch eine zusätzliche Bindung über das LFA-1/ CD 18 (Leukozytenfunktionsassoziiertes Molekül 1) aus der Integrinfamilie und ICAM-1/ CD 54 (intercellular adhesion molecule 1) aus der Immunglobulinfamilie findet eine Stabilisierung der Adhäsion statt.

Nach der Anhaftung an das reperfundierte Gefäßendothel erfolgt die mehrstufige Emigration aus dem Intravasalraum. Bei der Migration aktivierter Neutrophiler wird das umliegende Gewebe durch die verstärkte Ausschüttung von Enzymen und der immensen Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, dem so genannten respiratory Burst zerstört⁴⁹. Dies bringt zum Ausdruck, dass die PMN durch die O_2^- -Bildung mehr Sauerstoff verbrauchen, als normalerweise für die Atmung notwendig ist. Das Enzym NADPH-Oxidase bildet das Superoxidanion ($\bullet O_2^-$). Bei weiteren Reaktionen entstehen andere, zum Teil noch aggressivere Sauerstoffradikalprodukte. Durch Beteiligung leukozytärer und myokardialer Superoxiddismutasen (SOD) erfolgt die Umwandlung in Wasserstoffperoxid (H_2O_2). Ein weiteres wichtiges Enzym ist die Myeloperoxidase (MPO), welche die Bildung von Hydroxylradikalen ($OH\bullet$), hypochloriger Säure und Hypochlorit ($HOCl/OCl^-$) katalysiert. Aber nicht nur die Sauerstoffradikale sind bei der Entstehung postischämischer Reperfusionsschäden zu berücksichtigen, sondern auch oxidierende Derivate³⁸. Außerdem werden weitere Entzündungsmediatoren freigesetzt, wodurch die vaskuläre Reaktion und der Einstrom neuer Abwehrzellen aufrechterhalten werden.

2.7.1.3. Lipidperoxidation

Die bei der Reperfusion entstehenden Sauerstoffradikale können zum Teil die körpereigenen Schutzmechanismen überwinden und mit ungesättigten Fettsäuren der Zellmembranen reagieren. Auf diese Weise entstehen Lipidperoxidationsprodukte. Diese Hydroperoxide der Fettsäuren zerfallen auf Grund ihrer chemischen Instabilität rasch in Alkane, aliphatische und ungesättigte Aldehyde. Dabei entsteht auch das Malondialdehyd (MDA), welches zu den sogenannten sekundären Lipidperoxidationsprodukten gezählt wird und die Eigenschaft besitzt, Proteine und Lipide zu vernetzen. Es entfaltet seine toxischen Wirkungen durch verschiedene Mechanismen auf diversen zellulären Ebenen. Zu diesen Mechanismen gehören Reaktionen mit der DNA, fehlerhafte Transkriptionen und damit veränderte Genprodukte oder Funktionsstörungen intrazellulärer Proteine. Außerdem führen Lipidhydroperoxide zur Störung der Barrierefunktion und weiterer elementarer chemischer und physikalischer Eigenschaften der Zellmembran, mit dem Ergebnis, dass die Membranfluidität ab und die Rigidität zunehmen. Neben dem Reperfusionsschaden des Herzmuskels nach Ischämie sind die Auswirkungen der Lipidperoxidation Grundlage in der Pathogenese weiterer Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems, wie etwa der Arteriosklerose. Nach Myokardinfarkten kann ein sofortiger Anstieg der MDA-Konzentration, gefolgt von einem Abfall innerhalb der nächsten 12 Tage beobachtet werden. Die MDA-Bestimmung kann somit herangezogen werden, um Hinweise auf zellschädigende Mechanismen durch die Lipidperoxidation zu erhalten. Außerdem dient sie als Marker für das Ausmaß von oxidativem Stress und hilft bei der Einschätzung der Kompensationsfähigkeit des antioxidativen Systems unter oxidativer Belastung.

2.8. Therapieoption: α - Glucosidase – Inhibitor

Weltweit gibt es derzeit drei zugelassene α - Glucosidase - Inhibitoren, Acarbose, Miglitol und Voglibose. Die Mehrzahl der vorliegenden Studien wurde mit Acarbose durchgeführt, weshalb auch in dieser Arbeit Acarbose verwendet wurde⁵⁰. Vertrieben wird Acarbose von dem Pharmazeutischen Unternehmen Bayer Vital, Leverkusen.

2.8.1. Wirkmechanismus

Bei ausgewogener Ernährung entfallen ungefähr 30 Prozent der täglich aufgenommenen Kohlenhydrate auf Saccharose, ein aus Glukose und Fruktose bestehendes Disaccharid.

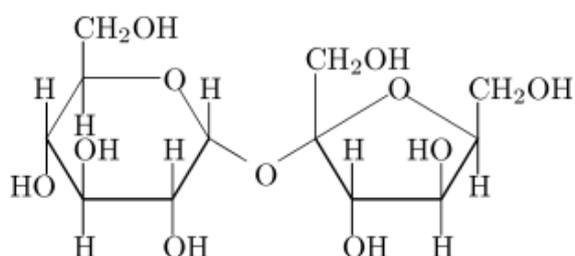


Abbildung 3: Saccharose

Saccharose besitzt ein Molekulargewicht von 342,30 g/mol und die Summenformel beträgt C₁₂ H₂₂ O₁₁.

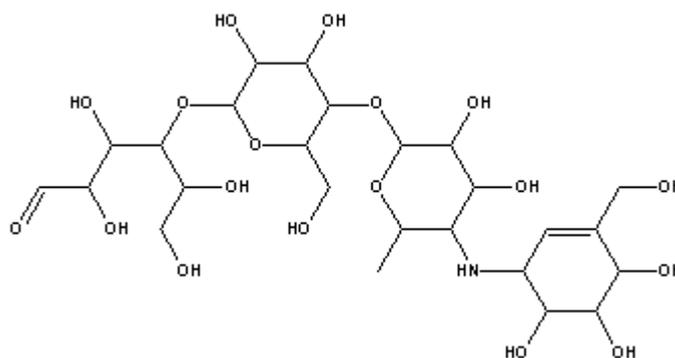


Abbildung 4: α - Glucosidase - Inhibitor Acarbose

Acarbose besitzt ein Molekulargewicht von 645.6 Da und die Summenformel beträgt C₂₅H₄₃NO₁₈.

α - Glucosidase - Inhibitoren hemmen die enzymatische Spaltung von Kohlenhydratabbauprodukten, wie Oligo- oder Disacchariden, durch die im Bürstensaum der Enterozyten lokalisierte Glucosidase in Monosacharide. Der Hauptwirkungsort der Acarbose ist im Dünndarm lokalisiert, wobei die Dauer der Wirkung auf vier und sechs Stunden beschränkt ist. Acarbose besitzt eine ca. 15.000fach höhere Enzymaffinität für die Glucosidase als das natürliche Substrat Saccharose. Durch diese kompetitive und reversible Enzymhemmung verzögern sich die Glukoseresorption im Dünndarm und der Übertritt von Glukose in die Blutbahn. Sowohl die Freisetzung der Glukose, als auch die Aufnahme von Disacchariden und komplexen Kohlenhydraten ins Blut werden somit direkt verlangsamt und über die Zeit verlängert, wodurch der Blutzuckeranstieg nach den Mahlzeiten weniger steil und hoch verläuft. Hierdurch werden die bei Typ 2 Diabetikern gehäuft auftretenden postprandialen Blutzuckerspitzen vermieden und eine langsame Glukoseresorption ermöglicht⁵¹.

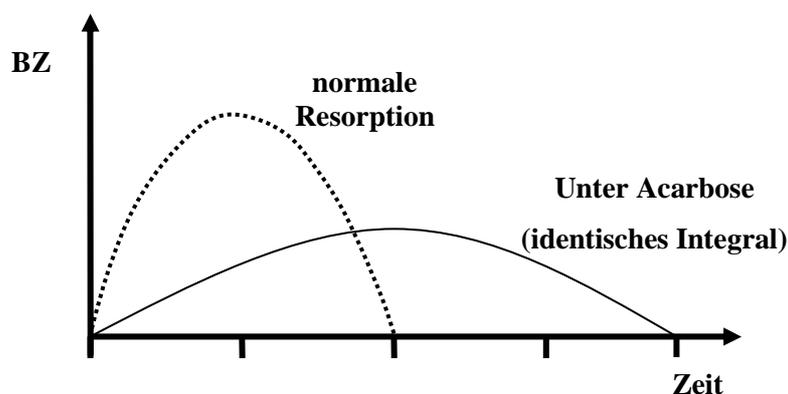


Abbildung 5: Resorption von Glukose aus dem Dünndarm

Die ausgleichende Wirkung auf die Zuckeraufnahme macht sich durch abnehmende Blutzuckerschwankungen im Tagesprofil bemerkbar, der Blutzuckerbasalspiegel sinkt. Im Ileum wird auf Grund der durch Acarbose vermehrt vorkommenden Monosacharide das Enterohormon (GLP-1) Glucagon-like-peptide sekretiert, welches wiederum die glukoseabhängige Insulinsekretion im Pankreas stimuliert.

Weitere direkte Angriffspunkte im Körper existieren nicht. Die anderen Effekte des Medikaments sind sämtlich Folge des erniedrigten postprandialen Blutzuckerspiegels. So wird eventuell durch den sinkenden Blutzucker und die abnehmenden Insulinplasmaspiegel die Insulinsensitivität der Organe gesteigert.

2.8.2. Wirkungen einer Acarbose-Behandlung

Der primäre und gewünschte Effekt einer Behandlung mit einem α - Glucosidase - Inhibitor besteht in der effektiven Senkung des postprandialen Glukosespiegels, wodurch auch eine signifikante Senkung des HbA1c erreicht wird. Bei der Einnahme von Acarbose durch Patienten mit gestörter Glukosetoleranz wird das Risiko, einen Typ 2-Diabetes zu entwickeln, um 36,4% reduziert⁵³.

Zudem wird durch die langjährige Behandlung mit Acarbose das Risiko einer Hypertonieentwicklung, sowohl systolisch, als auch diastolisch signifikant gesenkt. Dies gilt sowohl im Vergleich mit einem Placebo, als auch im Vergleich mit dem Sulfonylharnstoff Glibenclamid⁵³.

Weitere Ergebnisse der Behandlung mit Acarbose sind eine leichte Senkung der Herzfrequenz⁵³ sowie eine Reduktion des Körpergewichts.

All diese positiven Effekte tragen zu einer hochsignifikanten Senkung des Risikos kardiovaskulärer Ereignisse bei.

2.8.3. **Verstoffwechslung und Nebenwirkungsprofil**

Der Wirkstoff wird nach oraler Gabe nur wenig resorbiert und erst in tieferen Darmabschnitten von Bakterien und Enzymen hydrolysiert. Nicht im Dünndarm resorbierte Kohlenhydrate werden im Kolon unter Gasbildung in kurzkettige Fettsäuren lysiert und dort aufgenommen. Acarbose dagegen wird kaum vom Organismus aufgenommen und zu ca. 80 Prozent in der Faeces ausgeschieden.

Hieraus lassen sich auch schon die Hauptnebenwirkungen ableiten, die als milde bis mäßig ausgeprägte gastrointestinale Beschwerden in Form von Flatulenzen und Diarrhoe auftreten. Bereits nach der zweiten Therapiewoche sind diese Beschwerden jedoch deutlich regredient.

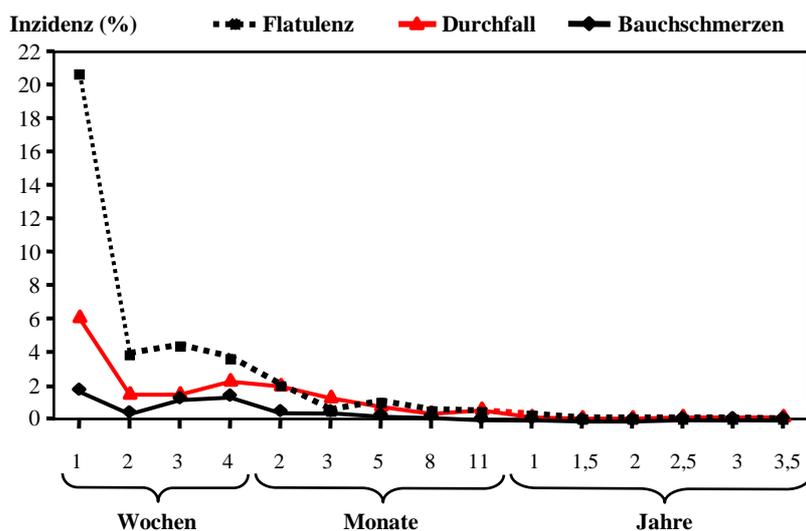


Abbildung 6: Nebenwirkungsprofil von Acarbose (nach 53)

Aufgrund der fehlenden intestinalen Resorption von Acarbose ist das Risiko systemischer Nebenwirkungen sehr gering. So treten Veränderung der Transaminasen, ebenso wie Hypoglykämien nicht auf.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Medikament Acarbose ein hervorragendes Sicherheitsprofil ohne schwerwiegende oder tödliche Ereignisse besitzt.

2.8.4. Wann empfiehlt sich die Therapie mit Acarbose ?

Der Einsatz von Acarbose ist besonders in der frühen, von der Insulinresistenz geprägten Phase der Erkrankung pathophysiologisch sinnvoll. Nach den Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) wird Acarbose daher besonders auch für die Kombinationstherapie gleichberechtigt neben weiteren oralen Antidiabetika empfohlen. Ein Vorteil der Therapie mit Acarbose besteht in der konstanten Wirkstärke auch bei längerer Therapiedauer.

2.9. Tiermodell

Die Zusammenhänge der bei Diabetikern erhöhten Inzidenz kardiovaskulärer Erkrankungen, der erhöhten kardiovaskulären Mortalität⁵² und deren Reduktion durch geeignete Therapiemaßnahmen lassen sich im Tiermodell erforschen. Es ist möglich, die Infarktgrößen vergleichend gegenüberzustellen von Tieren mit gesunder Stoffwechsellage, von Tieren mit über längeren Zeiträumen erhöhten Blutglukosespiegeln und von Tieren, welche medikamentös behandelt wurden. Auf diese Weise lässt sich eine Aussage über die Effektivität einer möglichen Behandlung erzielen.

Die verwendeten C57/BL6 Wildtyp-Mäuse wurden von der Firma Charles River Deutschland (Sulzfeld) bezogen und stellen ein klinisch relevantes Modell für die Untersuchung dar. Da die Mäuse mittels fortlaufender Inzucht gezüchtet wurden, waren die Herzgefäße gleich angelegt, so dass verschiedene Kollateralkreisläufe vernachlässigt und die Herzinfarktschäden besser verglichen werden konnten. Außerdem läuft der Heilungsprozess nach einem Myokardinfarkt sowohl bei Mäusen als auch bei Menschen in gleichen Stadien, aber innerhalb eines wesentlich kürzeren Zeitraumes ab, wodurch die Vergleichbarkeit vereinfacht und eine hohe Aussagekraft über die Anwendbarkeit beim Menschen erreicht wird²⁶.

2.10. Fragestellung

Die Behandlung von Diabetikern erfolgt gegenwärtig im Bereich der ambulanten Medizin interdisziplinär. Aus der Behandlung des Diabetes mellitus, insbesondere der Folge- und Begleiterkrankungen resultieren hohe Kosten, welche ein erhebliches gesundheitspolitisches Problem darstellen. Darüber hinaus stellt die Erkrankung auch eine erhebliche psychische und soziale Belastung dar. Da die Mortalität von Diabetikern gegenüber gesunden Personen erhöht ist, wobei die Haupttodesursache wie unter 2.3.1 erwähnt mit 40 bis 50 Prozent kardiovaskulären Erkrankungen zuzuschreiben ist, sollte bereits möglichst vor der Manifestation eines Diabetes präventiv therapiert werden.

In der STOP-NIDDM-Studie wurde bereits gezeigt, dass bei Patienten mit gestörter Glukosetoleranz (IGT) durch Senkung des postprandialen Blutzuckers mit dem α - Glucosidase - Inhibitor Acarbose das Diabetesrisiko reduziert werden kann⁵³. Durch Senkung der postprandialen Hyperglykämie wurde außerdem das kardiovaskuläre Risiko verringert. Insgesamt waren nach dem Befund aus der STOP-NIDDM-Studie bei Patienten mit IGT unter Acarbose 91 Prozent weniger Herzinfarkte aufgetreten.

Zum besseren pathophysiologischen Verständnis sollte mit dieser Arbeit untersucht werden, ob sich ein Zusammenhang zwischen der Höhe des postprandialen Zuckerspiegels und der Größe des geschädigten Herzinfarktareals nachweisen lässt.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Im Rahmen der Studie wurden insgesamt 56 adulte männliche Mäuse eingesetzt. Es handelte sich um Wild-Typ Mäuse, Stamm C57/BL6 der Firma Charles River, mit einem durchschnittlichen Alter zu Versuchsbeginn von 10 Wochen. Gehalten wurden die Mäuse in normierten Käfigen auf Standardeinstreu für Labortiere bei einer Raumtemperatur von 20-21° Celsius und einer Luftfeuchtigkeit von 55 Prozent. Für einen regelmäßigen 12 - Stunden - Tag - Nachtzyklus wurde mit Kunstlicht gesorgt. Wasser stand den Tieren ad libitum zur Verfügung. Das Futter bestand aus Pellets, einer Standardmischung für Ratten und Mäuse der Firma Altromin GmbH in Lage. Nach Angaben des Herstellers enthielt es folgende Inhaltsstoffe: 19 Prozent Rohprotein, 4 Prozent Rohfett, 7 Prozent Rohasche, 6 Prozent Rohfaser. Den Fütterungsplänen der einzelnen Gruppen entsprechend enthielten sie zusätzlich Saccharose oder Acarbose. Die Vorgaben des Deutschen Tierschutzgesetzes wurden bei allen Untersuchungen beachtet.

3.2. Dosierung der Substanzen

Vor der Fütterung wurde das Disaccharid Saccharose täglich frisch in Wasser aufgelöst, so dass den Tieren die Saccharoselösung in einer Dosierung von 4g/kg Körpergewicht über eine Schlundsonde verabreicht werden konnte. Die bereits im Grundlagen-Teil beschriebene Substanz Acarbose wurde in dem Verhältnis 10mg/kg Körpergewicht in Wasser gelöst. Als neutrale, pharmakologisch indifferente Substanz wurde zur Simulation des Fütterungsstressses Wasser verwendet, welches entsprechend dem Gewicht der Tiere in der Dosis von 0,01 ml pro Gramm Körpergewicht dosiert wurde.

3.3. Versuchsmodell

3.3.1. Allgemeiner Versuchsablauf

Die männlichen C57/BL6 Mäuse waren zu Beginn des Versuches jeweils 8-10 Wochen alt. Jedes Tier wurde zunächst gewogen, wobei das Gewicht zwischen 20-25 Gramm lag. Ihrem Gewicht entsprechend wurde den Tieren, beginnend acht Tage vor der Ischämie- Reperfusionsooperation, einmal täglich um 16.00 Uhr nach achtstündiger Nahrungskarenz, die gruppenspezifische Futterlösung verabreicht. Dieser Arbeitsschritt erfolgte bei jedem Tier separat mit einer Schlundsonde, welche aus einer handelsüblichen Braunüle aus Polyethylen mit einem Innendurchmesser von 0,6 mm bestand.

Die Futterpellets, welche entsprechend der zugehörigen Gruppe zusätzlich die jeweiligen Substanzen enthielten, standen den Mäusen im Zeitraum von 16.00-8.00 Uhr nach Belieben zur Verfügung. Die Pellets wurden morgens um 8.00 Uhr entfernt, um die vor der Applikation geforderte achtstündige Nüchternheit zu garantieren.

Im Abschluss der einwöchigen Behandlung wurden die Tiere erneut gewogen, ehe am 8. Tag die Ischämie- und Reperfusionsooperation erfolgte. 24 Stunden danach wurden die Herzen entnommen und zum Teil für die weitere histologische Untersuchung aufbereitet.

Zeit	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag	7.Tag	8.Tag	9.Tag
08.00Uhr	Pelletentfernung								
11.00Uhr								Ischämie	Herzentnahme
10.30Uhr								Reperfusion	
16.00Uhr	Schlundsonde: Gruppe Saccharose								
	Gruppe Saccharose/Acarbose								
	Gruppe Placebo								
	Pelletgabe								

Abbildung 7: Schematische Übersicht des Versuchablaufes

3.3.2. Gruppenzusammensetzung

Die in der vorliegenden Studie eingesetzten 56 adulten männlichen C57/BL6 Wildtyp-Mäuse wurden in drei Gruppen eingeteilt. 15 der Tiere wurden in die Saccharose-Gruppe, 21 Tiere in die Saccharose/Acarbose-Gruppe und 20 Tiere in die Placebo-Gruppe randomisiert. Alle Mäuse wurden über einen Zeitraum von insgesamt 9 Tagen behandelt, nach welchem die unter "Material und Methoden" beschriebenen Untersuchungen durchgeführt wurden.

Vor Beginn der Untersuchungsreihe wurden die Mäuse jeweils einzeln gewogen und ihre Gruppenzugehörigkeit entsprechend nach einer Isoflurankurzarkose mit einer Ohrkerbe markiert. Der Operation ging dann nochmals eine Gewichtsbestimmung der Mäuse voraus.

3.4. Organpräparation

3.4.1. Ischämie und Reperfusion

Das in vivo Ischämie-Reperusions-Modell der Maus wurde das erste Mal 1995 von Michael et al. mit einer Ischämiezeit von 30 Minuten publiziert⁵⁴.

Zur Operation am achten Tag der Versuchsreihe wurden die Tiere zur Narkoseeinleitung in einem mit Isofluran durchfluteten Gefäß betäubt. Der Operationstisch war, um ein Auskühlen der Tiere zu verhindern, mit 37° Celsius vorgewärmt. Hierauf wurden die Mäuse in Rückenlage fixiert und mit einem Polyethylentubus, dessen Innendurchmesser 0,6 mm betrug, intubiert. Die Narkose wurde mit Isofluran 0,5 Prozent aufrechterhalten. Während des Eingriffes wurden die Mäuse über einem Rodent Ventilator Typ 7025, Hugo Sachs Elektronik, March, Deutschland, mit einem Atemzugvolumen von einem ml und einer Frequenz von 120-140 / Minute beatmet. Außerdem erfolgte während der gesamten Operation über ein angeschlossenes EKG die Überwachung der elektrischen Herzaktivität. Vor dem eigentlichen Operationsbeginn wurde zunächst der Thoraxbereich geschoren und das Operationsfeld mit Cutasept F[®] desinfiziert. Es erfolgten ein Hautschnitt und die Freilegung des Herzens. Nach dem Aufsuchen der linken Koronararterie wurde dieselbige mit einem schwarzem Seidenfaden der Stärke 7-0 umfahren und anschließend 3-4 mm unterhalb der Spitze des linken Herzohres mit einem zusätzlich platzierten Polyethylentubus der Größe 1,0 mm ligiert. Letzterer diente dem zur Reperfusion erforderlichen leichteren erneuten Auffinden der Ligatur sowie der Prävention direkter Gewebe- und Gefäßläsionen durch den Faden. Nach 30 Minuten wurde die Ligatur auf dem Polyethylentubus wieder gelöst und so die Reperfusion ermöglicht.

Nach erfolgtem Eingriff wurde der Thorax mit einer fortlaufenden Naht mittels eines 6-0 Prolenefadens wieder verschlossen. Die Hautnaht wurde mit einem 4-0 Polyesterfaden verrichtet. Im Anschluss an die Extubation und eine einstündige Aufwärmphase unter einer Wärmelampe folgte zu der gewohnten Zeit die Fütterung über Schlundsonde mit gruppenentsprechender Lösung.

3.4.2. Herzentnahme und Färbung der Herzen

Die Herzentnahme fand 24 Stunden nach dem Ischämie- und Reperfusionseingriff am neunten Tag der Versuchsreihe statt. Nach Gewichtskontrolle erfolgte die Narkoseeinleitung mit Avertin i.p. (intraperitoneal) 0,4-0,75 mg/g in einer 1ml-Spritze mit einer Injektionskanüle von 0,6x30 mm. Die Lagerung und Narkoseaufrechterhaltung wurde nach der schon im vorherigen Abschnitt beschriebenen Vorgehensweise durchgeführt.

Nach Rethorakotomie durch einen etwa 2 cm langen Schnitt wurde zunächst die Aorta aufgesucht, von Bindegewebe gesäubert und mit einem schwarzen Faden umfahren. Im Anschluss wurde die linke Koronararterie an gleicher Stelle erneut okkludiert. Zur späteren Größenbestimmung des Risikoareals, der sogenannten "area at risk" (AAR), des Infarktgebietes (IB) und des Nicht-Infarktgebietes (NIB) wurde in die rechte Herzkammer fünf prozentige Evans Blue-Lösung injiziert, gefolgt von einer weiteren, mit KCl versetzten Injektion von Evans Blue zur Detektion des Risikoareals. Durch im folgenden Abschnitt erläuterte Färbezusätze erfolgte nach Herzentnahme die spezifische Färbung der unterschiedlichen Areale. Vor der Herauslösung des Herzens aus dem umgebenden Perikardgewebe erfolgte eine abschließende Injektion mit kardiopleger Lösung (10 Prozent Potassium Chlorid), um das Herz in der Diastole zu sistieren.

Vor der endgültigen Organentnahme wurden mit einer 1 ml-Spritze bis zu 0,2 ml Blut entnommen und unter Zusatz von EDTA (1,6 mg Kalium-EDTA/ ml Blut) in Eppendorfröhrchen gefüllt. Anschließend wurde die Probe für eine Dauer von fünf Minuten bei vier Grad Celsius mit einer Rotoreinstellung von 8.500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert.

Bei der Herstellung der Schnittpräparate vermittelte Agarose die für den Schnittvorgang notwendige Festigkeit, ohne dabei die Struktur wesentlich zu verändern. Die Herzen wurden auf Trockeneis zwischengelagert, um eine Temperatur von -20° Celsius zu erreichen und aufrecht zu erhalten. Auf einem Westernblottpapier wurden mit Skalpell und Pinzette aus jedem Herzen fünf gleichmäßige Querschnitte von etwa zwei

Millimetern Dicke angefertigt, wobei der letzte Schnitt im Bereich der Ligatur gesetzt wurde.

Die Scheiben wurden mit Phosphate buffered saline (PBS) gespült und in mit 1,5 prozentigem Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) gefüllte Eppendorfröhrchen gebracht⁵⁵. Sie kamen für 10 Minuten bei 37 Grad Celsius in ein Wärmebad, wobei durch das TTC die Vitalfärbung erfolgte. Das Prinzip beruht auf der Umwandlung von farblosem TTC zu einem farbigen Triphenylformazansalz. Dieser Schritt kann nur in vitalem, intrazelluläre Dehydrogenasen enthaltendem Gewebe stattfinden. Auf Grund der fehlenden Enzyme erfolgt in nekrotischem Gewebe keine Reaktion durch TTC. Das Farbreaenz wurde danach mit isotonischer Kochsalzlösung abgespült. Anschließend kamen die Schnitte zur Fixation der unterschiedlich gefärbten Areale in neue Eppendorfröhrchen, welche mit 3,7 prozentigem Formalin, neutral gepuffert mit PBS, gefüllt waren. Das vitale Gewebe der Infarktzone erschien danach rot, die infarktgeschädigten Areale auf Grund fehlender Enzymaktivität farblos und das übrige Gewebe blau.

3.4.3. Area at risk (AAR) und Infarktgröße

Jede Herzscheibe wurde gewogen und beidseitig digital fotografiert. Die jeweiligen Schnittflächen wurden planimetrisch nach der Fotografie erfasst und ausgewertet. So konnte die Größe des Infarktareals für jedes Herz mit Hilfe eines Bildanalyse-Systems bestimmt werden. Die Auswertung wurde doppelt verblindet durchgeführt. Alle Schnitte erhielten randomisierte Zahlen, mit denen eine Zuordnung der Behandlungsgruppe nicht möglich war. Die Größe des Infarktes wurde als prozentualer Anteil bezogen auf die Gesamtgewebefläche ausgedrückt und berechnet sich nach folgender Gleichung:

$$\text{Infarktgewicht} = (A_1 \cdot W_{t1}) + (A_2 \cdot W_{t2}) + (A_3 \cdot W_{t3}) + (A_4 \cdot W_{t4}) + (A_5 \cdot W_{t5})$$

Formel 1

Hierbei stellt A das Areal der Infarzierung bei der Planimetrie in Prozent dar und W_t ist das jeweilige Gewicht der einzelnen Scheiben.

Der Prozentsatz des infarzierten linken Ventrikels (ILV) berechnet sich folgendermaßen:

$$\text{ILV} = (W_{\text{Infarkt}} / W_{\text{Gesamt}}) \cdot 100$$

Formel 2

W_{Gesamt} steht für das Gewicht des gesamten linken Ventrikels, welches sich aus dem Gewicht des infarzierten Areals W_{Infarkt} und dem Gewicht des nicht infarzierten Areals des linken Ventrikels $W_{\text{Restmyokard}}$ zusammensetzt.

Die Area at risk (AAR) berechnet sich ebenfalls als Prozentsatz:

$$\text{AAR} = (W_{\text{Gesamt}} - W_{\text{Restmyokard}}) \cdot 100$$

Formel 3

3.5. Herzaufbereitung für immunhistochemische Untersuchungen

Bei einem weiteren Teil der Tiere wurden die Herzen nicht zur Infarktgrößenbestimmung gefärbt, sondern stattdessen immunhistochemischen Untersuchungen zugeführt. Hierbei erfolgte nach der unter 3.4.2 beschriebenen Herzentnahme zunächst ebenfalls wieder die Aufteilung in fünf Anteile. Zunächst wurde die Basis, gefolgt von der Herzspitze mittels Skalpell abgeschnitten und in ein Eppendorfröhrchen gefüllt. Eine Scheibe wurde für die Histologie in einem formalingefüllten Eppendorfröhrchen bei Raumtemperatur asserviert. Für die Immunhistologie wurde eine weitere Scheibe in Flüssigstickstoff bei -80° Celsius schockgefroren und in Isopentan aufbewahrt.

3.5.1. Myeloperoxidase - Aktivität

Die Myeloperoxidase (MPO) - Aktivität wurde als Marker für die Infiltration von neutrophilen Granulozyten nach dem Ischämie-Ereignis gemessen. Hierzu wurde das zu untersuchende Herzmuskelgewebe in 500 μ l kaltem Phosphat-Puffer in drei Zyklen homogenisiert, jeweils für 30 Sekunden gemischt mit zwischengeschalteter Ruhephase. Anschließend wurde die Probe bei 4 Grad Celsius 15 Minuten bei 14.000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, und das Gewebe in 500 μ l 5mM Citratpuffer pH 5 mit 0,5 prozentigem Hexadecyl - Trimethyl - Ammonium - Bromid (HTAB) inkubiert. Es erfolgte ein dreimaliges, jeweils 10 Sekunden andauerndes Ultraschallbad in Eiswasser, mit intermittierenden Pausen von 10 Sekunden, sowie eine nochmalige Homogenisation. Nach drei Zyklen Einfrieren mit N_2 und Auftauen in einem Wasserbad mit 37 Grad Celsius wurden die Ultraschallbadprozedur sowie die Zentrifugation wiederholt. In dem Überstand konnte schließlich der Proteingehalt bestimmt werden.

Es wurde dann im Anschluss eine Verdünnungsreihe angesetzt und jeweils 75 μ l Substrat (3 mMol 3,3' 5,5'- Tetramethylbenzidin TMB) in 5 mMol Citratpuffer pH 5 und 8,8 mMol H_2O_2 zugegeben⁵⁶.

Nach zwei Minuten Ruhe bei Raumtemperatur in einem abgedunkelten Raum wurde die Reaktion durch Zugabe von kalter 4 N Schwefelsäure (H₂SO₄) gestoppt. Die Absorption wurde sofort im Anschluss mit dem Photometer (Biorad Platereader Model 550) bei einer Wellenlänge von 450nm gemessen. Als Standard zum Vergleich der myokardialen Murin - MPO - Aktivität wurde die menschliche MPO - Aktivität herangezogen.

3.5.2. Herzhistologie - Immunhistochemie

Zur genauen Lokalisation und Quantifizierung der Infiltration neutrophiler Granulozyten wurden immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt. Durch den Einsatz gewebsspezifischer Antigene können ganz bestimmte ausgewählte Strukturen sehr präzise lokalisiert werden. Es handelt sich hierbei um eine mehrstufige Nachweismethode, wobei die immunologische Bindung verschiedener gegeneinander gerichteter Antikörper, die sogenannte PAP-Technik, Peroxidase-anti-Peroxidase verwendet wird (Vectastain ABC Kit, Vector Laboratories, Burlingame, CA). Der sequentielle Ablauf mehrerer Reaktionen führt bei dieser Verfahrenstechnik zu einer kaskadenartigen Verstärkung des Nachweissignals.

Im ersten Schritt wird der so genannte primäre Antikörper eingesetzt, welcher sich spezifisch an das gesuchte Epitop bindet. Die Zellen wurden in der vorliegenden Arbeit mit primären F4/80 Ratte-anti-Maus Antikörpern (Research Diagnostics, Flanders, NJ) inkubiert. Hierdurch wurde das für Monozyten und Makrophagen spezifische F4/80-Antigen gebunden⁵⁷. Weiterhin wurde ein primärer Clone 7/4 Ratte-anti-Maus Antikörper (Linaris, Wertheim, Deutschland) gegen neutrophile Granulozyten oder ein nicht immunes Immunglobulin verwendet.

In einem zweiten Schritt wurden diese gebundenen primären Antikörper indirekt durch gegen sie gerichtete sekundäre Antikörper lokalisiert und in einer dritten Stufe durch eine Komplexbildung mit Enzymen sichtbar gemacht. Abschließend wurden die Gewebestücke gewaschen, getrocknet und für die Lichtmikroskopische Untersuchung präpariert.

3.6. Erfassung biochemischer Parameter

3.6.1. Glukosebestimmung im Plasma

Die erste Blutentnahme erfolgte jeweils vor der Fütterung am Tag vor der Ischämieoperation. Zwei weitere Blutentnahmen folgten 15 und 30 Minuten nach der ersten Entnahme und abgeschlossener Fütterungsprozedur. Auf diese Weise konnten die Belastungen während eines oralen Glukosetoleranztestes beim Menschen nachgestellt werden und die Ergebnisse leichter übertragen werden.

Vor diesem Eingriff wurden die Tiere durch ein Gemisch aus 4 l/ Minute Sauerstoff, 3 l/ Minute Lachgas und 3-3,5 Vol. Prozent Isofluran betäubt. Im Anschluss wurde vorsichtig eine Einmal-Mikropipette (20 µl) über den medialen Augenwinkel zur Orbitaspitze vorgeschoben, wo durch eine Drehbewegung der retrobulbäre Venenplexus eröffnet und mit einer Pipette Blut entnommen wurde, welches nach Zusatz von EDTA bei 2000g insgesamt 10 Minuten zentrifugiert wurde. Die Bestimmung der Plasmaglukose erfolgte auf enzymatischem Wege, wozu herkömmliche Testkits (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) und der photometrisch arbeitende Autoanalyzer EPOS 5060 (Eppendorf GmbH, Hamburg) verwendet wurden.

3.6.2. Messung der Lipidperoxidation

Die Lipidperoxidation kann mit dem labordiagnostischen Marker Malondialdehyd (MDA) bestimmt werden. Es ist ein Zerfallsprodukt mehrfach gesättigter peroxidierter Fettsäuren und ist in seiner Wirkungsweise quervernetzend. Die Quantifizierung der Belastung durch Radikale erfolgt mit dem Nachweisreagenz Thiobarbitursäure (TBA) durch eine Hochleistungs- Flüssigkeitschromatographie (HPLC)⁵⁸.

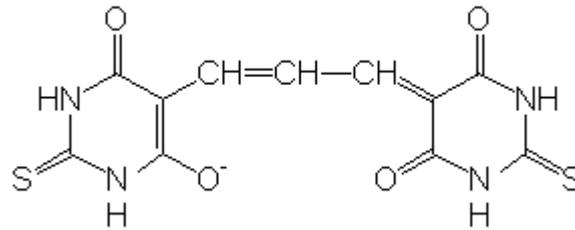


Abbildung 8: Malondialdehyd

Die chemische Summenformel von Malondialdehyd beträgt $C_3H_4O_2$. Hier ist Malondialdehyd in Verbindung mit dem Nachweisreagenz Thiobarbitursäure abgebildet.

Die MDA-Bestimmung erfolgte nach der unter 3.6.1 beschriebenen Blutentnahme, wobei zunächst die Proben wie folgt vorbereitet werden mussten. In jedes Reaktionsgefäß wurden jeweils 75 μ l Phosphorsäure vorgelegt und 50 μ l Plasma von den zu untersuchenden Tieren hinzupipettiert. Des Weiteren folgten jeweils 250 μ l Thiobarbitursäure. Die Reaktionsgefäße wurden für eine Stunde bei 99°C inkubiert, woraufhin sich die sofortige Kühlung auf Eis anschloss. Das in saurem Medium stabile Malondialdehyd-Thiobarbitursäure Addukt (MDA-TBA) zerfällt langsam bei neutralen bis alkalischen pH-Werten. Unmittelbar vor der HPLC - Analyse kamen 0,15 ml der zubereiteten Plasmaprobe mit 0,15 ml methanolischem Natriumhydroxid für fünf Minuten bei 9500 U/ Minute in die Zentrifuge. Der klare Überstand wurde anschließend für die Analyse eingesetzt.

Die Bestimmung der MDA-Konzentration erfolgte in einem Fluoreszenzspektrometer. Verwendet wurde hierfür die HPLC Pumpe Pharmacia (LKB HPLC PUMP 2248) und μ Bodapack C 18 als Säulenmaterial. Die Exzitationswellenlänge betrug 532 nm (Wolframlampe) und die Emmissionswellenlänge 550 nm. Als Fließmittel wurde ein Gemisch aus 400 ml Methanol mit 600 ml Phosphatpuffer verwendet. Der Nachweis erfolgte mit dem Detektor Uvicord VW 2251, während die anschließende Auswertung mit McDAaq for Windows 1.3x der Familie Bischoff stattfand.

3.7. Statistik

Sämtliche erhobenen Daten wurden als Mittelwert mit ihrem jeweiligen Standardfehler verwendet und angegeben.

Die Differenzen zwischen den unterschiedlichen Gruppen wurden mit Hilfe des ANOVA Testes untersucht und nach der Fisher Regel korrigiert. Von Statistischer Signifikanz wurde gesprochen, wenn p kleiner 0,05 war. Die gesamte statistische Auswertung wurde mit dem Stat View Statistik Programm (Abacus Concepts, Inc., Berkley, CA, USA) durchgeführt.

4. ERGEBNISSE

4.1. Blutglukose

Abbildung 9 stellt die Werte der Blutglukosespiegel der unterschiedlichen Behandlungsgruppen dar. Sowohl 15 als auch 30 Minuten nach Saccharosefütterung waren die Serumglukosewerte signifikant höher. In der Gruppe, die mit dem Gemisch aus Saccharose und Acarbose behandelt wurde, waren die BZ-Werte nach 15 Minuten signifikant unterhalb der Saccharose-Gruppe und fielen nach 30 Minuten auf das gleiche Niveau, welches bei Placebofütterung vorlag.

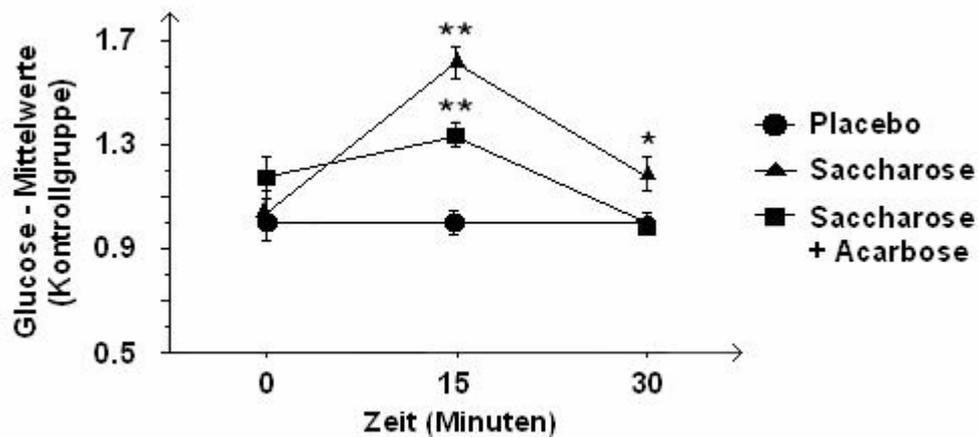


Abbildung 9: Serumglukose-Spiegel (nach 50)

4.2. Area at risk und Infarktgröße

Die Area at risk (AAR) der Placebo Gruppe (n=8) war bei der planimetrischen Bestimmung weder von der jeweiligen AAR in der Saccharose (n=6) noch von der AAR in der Saccharose / Acarbose Gruppe (n=8) signifikant abzugrenzen (41,5+2,6% im Vergleich zu 34,2+1,9% und zu 37,2+3,1%, p=n.s.).

Obwohl die durchschnittliche Area at risk bei allen Tieren gleich groß war, fiel bei den Mäusen aus der Saccharose-Gruppe ein signifikant vergrößerter Myokardinfarkt im

Gegensatz zu den Mäusen aus der Placebogruppe auf. Bei der Betrachtung der Infarktareale lagen die Werte für die Placebotiere bei 38,8+7.5% Infarkt/AAR und im Vergleich dazu bei den Saccharosetieren bei 62,2+4.8% Infarkt/AAR, (p=0,03).

In der mit der Kombination aus Saccharose und dem Glucosidase - Inhibitor behandelten Gruppe fiel der Myokardschaden signifikant geringer aus: Infarkt/AAR Saccharose verglichen mit Saccharose/Acarbose; 62,2+4,8% zu 30,7+7,2%, (p=0,006).

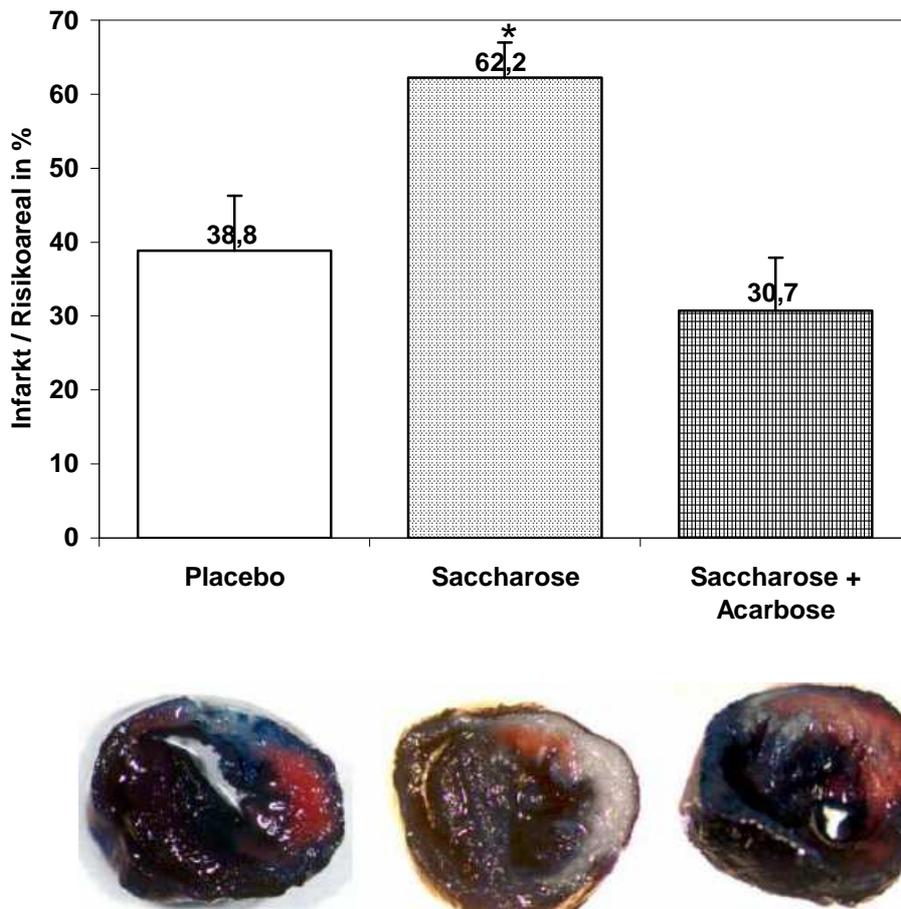


Abbildung 10: Infarktgröße / Risikoareal
 Repräsentative Beispiele der Myokardinfarkte nach 30 minütiger Ischämie und 24 Stunden Reperfusion (nach50).

4.3. Neutrophile Granulozyten

In diesem vorliegenden Modell zur Untersuchung des Einflusses einer wiederholten postprandialen Hyperglykämie auf den kardialen Ischämie- und Reperfusionsschaden, waren keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Einstroms neutrophiler Granulozyten zu verzeichnen. Der Gehalt an Myeloperoxidase war nicht unterschiedlich, so wies die Placebogruppe (n=9) 1,8+0,8 U/g Protein auf, die Saccharosegruppe (n=7) 1,1+0,2 U/g Protein und in der Saccharose / Acarbosegruppe (n=9), fielen 2,0+0,6 U/g Protein auf (p=n.s.).

In der immunhistochemischen Untersuchung stellte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen heraus. So zeigten sich folgende Ergebnisse für die unter 3.5.2 beschriebenen Versuche mit dem primären Clone 7/4 Ratte-anti-Maus Antikörper gegen neutrophile Granulozyten: 136 + 24,8 Zellen / mm² in der Placebogruppe, 120,5 + 8,7 Zellen / mm² in der Saccharosegruppe und 126,3+28,9 Zellen / mm² in der Saccharose / Acarbosegruppe (p=n.s.).

Weiterhin zeigten sich in dem Versuch mit dem primären F4/80 Ratte-anti-Maus Antikörpern gegen Monozyten und Makrophagen 22+14 Zellen / mm² in der Placebogruppe 80,5+61 Zellen / mm² und 103+58 Zellen / mm² in der Saccharose / Acarbosegruppe, was nicht signifikant unterschiedlich war.

4.4. Oxidativer Stress

Bei den Tieren, welche der wiederholten Verabreichung von Saccharose ausgesetzt waren, ging der Ischämie- und Reperfusionsschaden mit einem signifikant erhöhten Niveau der Lipidperoxidase (Malondialdehyd) einher, welches wie unter 2.7.1.3 erwähnt, ein Maß für die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies ist. Als Referenzwert für die Lipidperoxidation wurde der MDA - Normalwert (im Heparin-Plasma) von 1,2-2,8 mmol/l herangezogen.

Bei den Tieren, die im Gegensatz dazu zusätzlich mit Acarbose behandelt wurden, befanden sich die Werte der ROS auf dem Niveau der Kontrollgruppe.

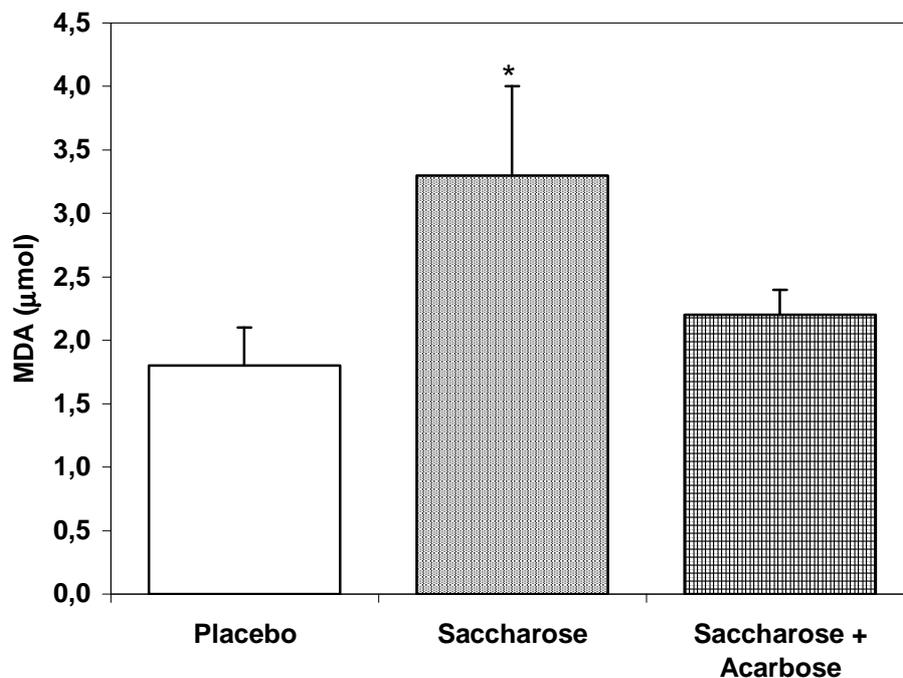


Abbildung 11: Oxidativer Stress (nach 50)

Lipidperoxidationsprodukte (Malondialdehyd) waren im Serum der mit Saccharose behandelten Tiere deutlich erhöht. Dieser Effekt war unter der Behandlung mit Acarbose nicht nachweisbar (* $p < 0.05$).

5. DISKUSSION

5.1. Effekte von Acarbose

In der hier vorliegenden Studie konnte tierexperimentell nachgewiesen werden, dass ein akutes Ischämie- und Reperfusionseignis bei wiederholter postprandialer Hyperglykämie einen signifikant größeren kardialen Schaden zur Folge hat, als bei stetiger Normoglykämie. Dieser Effekt von Glukose konnte verhindert werden, indem vorbeugend der α -Glucosidase-Inhibitor Acarbose verabreicht wurde. Die Ergebnisse zeigen, dass sogar bei gesunden Wildtyp-Tieren, die lediglich durch erhöhte alimentäre Zuführung von Saccharose erhöhte postprandiale Blutzuckerwerte bekamen, eine signifikante Reduktion der Schäden durch kardiovaskuläre Ischämie erreicht werden konnte, indem die Blutzuckerspitzen durch zusätzliche Acarbosegabe abgefangen werden konnten. Somit zeigte sich Acarbose als ein orales Antidiabetikum, welches in der Lage ist, die Größe einer Myokardinfarkt Narbe zu vermindern. Dieses konnte bemerkenswerterweise in der UKPDS-Studie³ weder von den dort verwendeten oralen Antidiabetika vom Sulfonylharnstofftyp noch von Insulin erreicht werden. Die wichtige kausale Rolle des positiven Effektes von Acarbose nimmt daher wahrscheinlich die Reduktion der postprandialen Blutzuckerwerte ein, was die Acarbose von sämtlichen anderen existierenden oralen Antidiabetika unterscheidet. In welchem Umfang die Acarbosebehandlung die postprandialen Glukosewerte signifikant reduzieren konnte, wurde mit der Blutzuckerkontrolle zu unterschiedlichen Zeitpunkten vor und nach der Fütterung geprüft und in Abbildung 9 dargestellt. Die Ergebnisse stimmten mit den postprandialen Glukosewerten bei Menschen nach einem oralen Glukosetoleranztest überein⁵⁹ und ließen sich mit Glukose und Insulinspiegeln nach gemischten Mahlzeiten in Zusammenhang bringen⁶⁰.

Außerdem wurde gezeigt, dass die durch eine Hyperglykämie verursachten ausgeprägteren Schäden am Myokard nicht mit einer gesteigerten Infiltration von neutrophilen Granulozyten einhergehen, der oxidative Stress aber durchaus zunimmt. Durch Senkung der postprandialen Hyperglykämie konnte auch dieser zusätzliche Risikofaktor des oxidativen Stresses reduziert werden.

5.2. Hyperglykämie und Ischämie - und Reperfusionsschaden

Klinische Studien haben bewiesen, dass Diabetikerherzen empfindlicher auf Ischämieereignisse reagieren, als die Herzen gesunder Personen. Das Risiko, einen Myokardinfarkt zu erleiden, steigt mit der Höhe der Blutzucker- bzw. HbA1c-Werte an und liegt bei Patienten mit Typ 2 Diabetes ohne Myokardinfarkt ähnlich hoch wie bei Nichtdiabetikern mit einem bereits erlittenen Myokardinfarkt in der Anamnese⁶¹. Ebenfalls sind bei Diabetikern deutlich höhere Mortalitätsraten nach dem ersten Myokardinfarkt zu erwähnen⁶², was die bereits in der Einleitung erwähnte Notwendigkeit zur strengen Einstellung der Blutzuckerwerte verdeutlicht. Die Sterblichkeit bei dieser und anderen Folgekrankheiten ist bei Typ-2-Diabetikern direkt oder indirekt von der Stoffwechselkontrolle abhängig. Eine über mehrere Jahre durchgeführte große englische Studie (UKPDS)³ zeigte, dass das Risiko umso geringer ist, je tiefer das HbA1c und je tiefer die Blutzucker-Werte sind. Zudem ergaben Studien wie DIGAMI³¹, dass die rasche Normalisierung und strikte Führung des Blutzuckerwertes zu einer erheblichen Verbesserung der Prognose bei diesen Patienten nach erfolgtem kardiovaskulären Ereignis führt.

Dagegen existieren kontroverse Ergebnisse bei experimentellen Studien mit diabetischen Tiermodellen⁶³. Wie von Paulson⁶⁴ nachgewiesen werden konnte, ist das Ergebnis der in vivo und in vitro Tierexperimente abhängig von der Dauer und Schwere der diabetischen Grunderkrankung und der Ischämiedurchflussrate. Ein erst seit kurzer Zeit bestehender oder auch ein milder Diabetes war generell mit einer geringeren Empfindlichkeit gegenüber einer kompletten Ischämie assoziiert. Nahm die Dauer oder die Schwere des Diabetes mellitus allerdings zu, stieg die Empfindlichkeit gegenüber der Ischämiedauer deutlich an.

Derzeit liegen nur wenige Daten vor, welche die Fragestellung ischämischer Schäden bei erhöhten Zuckerspiegeln im Tiermodell ohne manifesten Diabetes aufgreifen. So liegen beispielsweise Ergebnisse zu induzierter Hyperglykämie durch kontinuierliche Dextroseinfusion bei einem Kaninchen-Modell während einer Ischämie- und Reperusionsperiode von zwei Stunden vor⁶⁵. Genau wie in der hier vorliegenden Studie

nahm bei den Kaninchen die Größe des Infarktes mit steigender Höhe des Blutglukosespiegels zu. Von einer weiteren Arbeitsgruppe um Kersten wurden in einem ähnlichen Modell mit Hunden bereits vergleichbare Ergebnisse erzielt⁶⁶.

Wichtig ist allerdings nicht nur der erhöhte Blutzuckerwert per se, sondern auch zu welchem Zeitpunkt in Bezug auf die Nahrungsaufnahme er vorliegt. So kann das Risiko bei Personen in der sogenannten prädiabetischen Phase mit noch kaum erhöhten Nüchtern-Blutzuckerwerten bereits erheblich gesteigert sein. Bei diesen Patienten zeigte sich, dass der Blutzuckeranstieg nach dem Essen ein wichtigerer Risikofaktor ist als die Nüchtern-Blutzuckerwerte vor den Mahlzeiten.

Beim Vergleich der kardiovaskulären Ereignisraten von stoffwechselgesunden, prädiabetischen und neudiagnostizierten diabetischen Probanden ließ sich der stärkste Anstieg in der Übergangsphase vom Gesunden zum Prädiabetiker nachweisen⁶⁷. Bei weiterer Dekompensation des Glukosestoffwechsel stieg die kardiovaskuläre Ereignisrate weiter, allerdings bei weitem nicht mehr so steil, wie zu Beginn der Erkrankung.

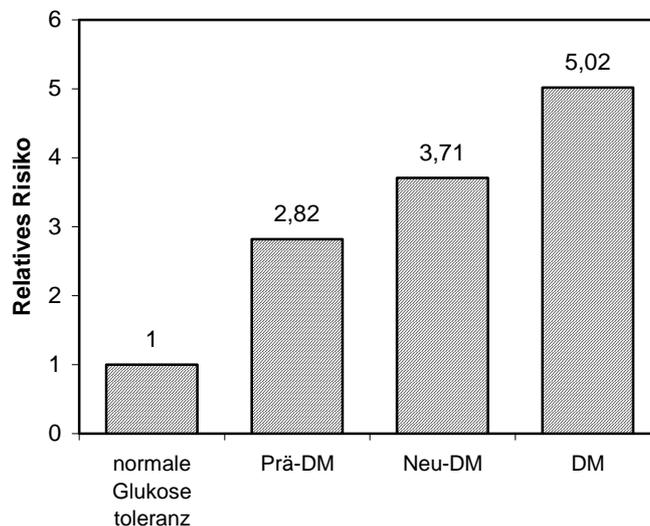


Abbildung 12: Korrelation von Glukosespiegel und kardiovaskulärem Risiko. Bereits im prädiabetischen Stadium besteht eine deutliche Erhöhung des Risikos bezüglich kardiovaskulärer Ereignisse(67).

Das bedeutet, dass in dieser ersten Übergangsphase zwar die meisten Ereignisse stattfinden, es sich aber gleichzeitig um einen Zeitraum handelt, in dem die Patienten nicht optimal diagnostiziert werden, wenn nur der HbA1c und der Nüchternblutzucker betrachtet werden.

Mit dem in dieser vorliegenden Arbeit beschriebenen Aufbau wurde zum ersten Mal für das *in vivo* Modell der Maus nachgewiesen, dass sogar bei stoffwechselgesunden Wildtyp-Tieren mit wiederholten postprandialen Hyperglykämien nach einer Ischämie und Reperfusion signifikant größere Infarktareale auftreten, als bei den normoglykämischen Versuchstieren der Placebo-Gruppe.

Die zur Prophylaxe der postprandialen Hyperglykämie durchgeführte alleinige Inhibition der enteralen α -Glucosidasen war ausreichend, um die hervorgerufenen Schäden zu verringern.

5.3. Infarktgrößenbeeinflussung durch neutrophile Granulozyten

Eine Ischämie mit nachfolgender Reperfusion geht, wie unter 2.5 beschrieben, stets mit einer intensiven Entzündungsreaktion einher, welche unter anderem die Infiltration von polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten (PMN) und somit auch den Einfluss von Zytokinen und oxidativem Stress durch die ROS beinhaltet. Die Auswirkungen der postischämischen Infiltration durch neutrophile Granulozyten waren bereits Bestandteil verschiedener Studien. So untersuchte die Gruppe um Lefer⁷³ als Modell für den Typ 2 Diabetes Mäuse (db/db) mit einem fehlerhaften Leptinrezeptor nach 30 minütiger Ischämie des Ramus interventricularis anterior (RIVA) mit nachfolgender Reperfusion. Die histologische Untersuchung dieser Herzen ergab signifikant größere nekrotische Myokardareale sowie einen erhöhten Anteil neutrophiler Granulozyten als in den Herzen stoffwechselgesunder Tiere.

In der Vergangenheit konnten mehrere Nachweise erbracht werden, dass die Anzahl der neutrophilen Granulozyten mit der Größe des nekrotischen Areals nach Ischämie und Reperfusion korreliert. Eine hierbei verwendete Nachweismethode befasste sich mit dem Nachweis von monoklonalen Antikörpern gegen das Adhäsionsmolekül CD11/CD18 der PMN (auch α - β -Integrin genannt)^{68,69}.

Durch eine experimentelle Unterbrechung der Entzündungsreaktion durch die Gabe von monoklonalen Antikörpern gegen die Leukozyten-Adhäsionsmoleküle wurde bereits mehrfach erfolgreich versucht, im Tierexperiment die myokardialen Schäden zu reduzieren^{70, 71}. Im Jahr 1990 konnten durch Anwendung eines solchen monoklonalen CD18 (GAME 46) - Antikörpers auch eine verringerte Infiltration durch polymorphkernige neutrophile Granulozyten (PMN) und daraus folgende kardioprotektive Effekte in einem Ischämie- und Reperfusionsmodell der diabetischen Maus nachgewiesen werden⁷².

Allerdings konnte in unserer Studie keinerlei Korrelation zwischen der Größe des Myokardinfarktes und der Anzahl der neutrophilen Granulozyten und daher auch kein signifikanter Unterschied in den unterschiedlichen Gruppen der mit Saccharose, Placebo

oder Saccharose / Acarbose behandelten Mäuse für die Myeloperoxidase-Aktivität, welche als Marker für die Infiltration⁷³ von neutrophilen Granulozyten herangezogen wurde, festgestellt werden. Die MPO - Aktivitäten waren jeweils ähnlich hoch, obwohl sich die Infarktgrößen der verschiedenen Gruppen durchaus signifikant unterschieden. Daraus wurde außerdem gefolgert, dass die Neutrophileninfiltration durch die alleinige Saccharose - Behandlung ohne Diabetes mellitus nicht beeinflusst wurde. Dies war insofern überraschend, da in Studien an Herzen diabetischer Mäuse signifikant höhere Neutrophilenwerte nach Ischämie und Reperfusionsschaden nachgewiesen worden sind, als in Studien mit gesunden Tieren⁷³.

5.4. Beeinflussung der Infarktgröße durch oxidativen Stress

Weiterhin werden, wie unter 2.7 ausführlich geschildert, im kardialen Ischämie- und Reperfusionsgebiet auch Reaktive Sauerstoff Produkte produziert³⁷. In den oben bereits mehrfach zitierten Arbeiten konnte gezeigt werden, dass verschiedene antioxidativ wirkende Enzyme oder oxidantienbeseitigende Reagenzien nach Ischämie- und Reperfusionseignissen kardioprotektiv wirken. Dies konnte auch im Plasma von Patienten mit Diabetes Typ 2 bestätigt werden, bei denen nach medikamentöser Reduktion einer postprandialen Hyperglykämie ein verminderter oxidativer Stress nachgewiesen und anhand von Nitrotyrosinen verifiziert wurde⁷⁴.

Auch in der vorliegenden Arbeit konnte nach Acarbosebehandlung ein gegenüber der Saccharosegruppe signifikant verminderter oxidativer Stress verzeichnet werden. Damit könnte der verminderte oxidative Stress für die kardioprotektive Wirkung einer Acarbosebehandlung verantwortlich sein, wie schematisch in der Abbildung 13 dargestellt ist.

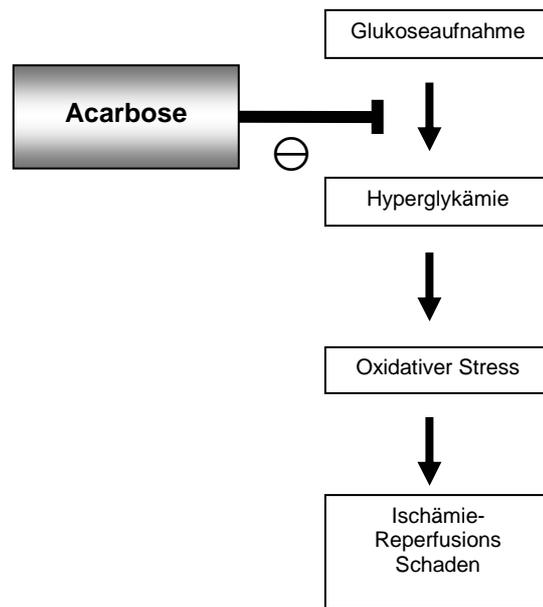


Abbildung 13: Folgen postprandialer Hyperglykämie

Weiterhin steht oxidativer Stress auch in Zusammenhang mit endothelialer Dysfunktion, welche wiederum ebenfalls kardiovaskuläre Erkrankungen und die Hypertonieentwicklung mitbedingt. Diese Beobachtungen lassen vermuten, dass die Verringerung des oxidativen Stresses ein interessanter Mechanismus ist, über den Acarbose zum Teil den präventiven Einfluss auf das Gefäßsystem entfaltet.

5.5. Klinische Auswirkung

An Diabetes erkrankte Menschen erleiden in ihrem Schweregrad und ihrer Ausdehnung schwerere Herzinfarkte, als ihre nicht von Diabetes betroffenen Mitmenschen⁷⁵. Wenngleich der Diabetes häufig mit weiteren, in der Einleitung aufgeführten kardiovaskulären Risikofaktoren vergesellschaftet ist, wie der Hyperlipidämie und dem Bluthochdruck, gibt es noch einen zusätzlichen, hiervon unabhängigen bedeutsamen kardiovaskulären Risikofaktor, der in den vergangenen Jahren mittels prospektiver Untersuchungen identifiziert werden konnte. Es handelt sich um die postprandiale Hyperglykämie, bzw. postchallenge - Hyperglykämie und nicht um generell erhöhte Serum-Glukosekonzentrationen, wie sie bei der gestörten Glukosetoleranz (IGT)⁷⁶ oder dem Diabetes mellitus vorzufinden sind. Im Rahmen der STOP-NIDDM Studie wurde erstmals untersucht, ob durch das Vermeiden der postprandialen Hyperglykämien ein Effekt auf das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen nachzuweisen war. Tatsächlich bewirkte die Behandlung mit Acarbose eine Risikoreduktion eines Myokardinfarktes um 91% sowie eine signifikante Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse generell um 49% in einer von der gestörten Glukosetoleranz betroffenen Population⁵³.

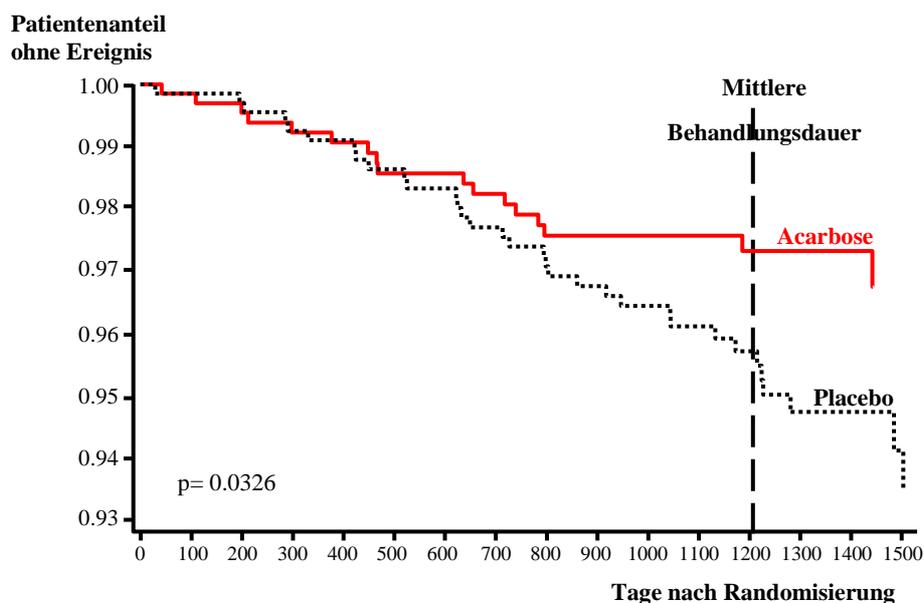


Abbildung 14: Risikoreduktion eines kardiovaskulären Ereignisses (nach 53)

In der MERIA-Studie⁷⁷ konnten die Ergebnisse der STOP-NIDDM-Studie bestätigt werden. Aus beiden Studien ging hervor, dass die Behandlung mit Acarbose zu einer relativen Risikoreduktion kardiovaskulärer Ereignisse jeglicher Art führte. Insgesamt zeigte sich, dass eine Normalisierung der postprandialen Hyperglykämie in einem ähnlichen Ausmaß das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse zu verringern vermochte, wie die Gabe von Statinen oder ACE-Hemmern.

In der hier vorliegenden Studie wurde versucht, die komplex zusammenhängenden verschiedenen Mechanismen der ungünstigen Effekte eines erhöhten postprandialen Blutzuckers zu erläutern. Dieser hat direkte Auswirkungen auf das Ausmaß des kardialen Schadens nach Ischämie und Reperfusion, vermittelt durch eine hohe Anzahl reaktiver Sauerstoffprodukte, sogenannter reactive oxygen species (ROS). Diese postprandialen hyperglykämischen Spitzen sind alleinig als Ursache für die ungünstigen Ergebnisse nach myokardialer Infarzierung zu betrachten, unabhängig von der beschleunigten Entstehung einer Arteriosklerose^{21,37}. Alleinig erhöhte Nüchternblutzuckerwerte (NBZ) haben laut Funagata Diabetes Study⁷⁸ Einfluss auf die Prävalenz von kardialen Ereignissen. Daher kann die postprandiale Hyperglykämie als ein prognostischer Marker für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität bei Typ-2-Diabetikern verwendet werden.

Aus dem Gesagten ist deutlich geworden, dass der erhöhte postprandiale Blutzucker ein ernstzunehmendes Problem darstellt, welches noch konsequenter als bisher behandelt werden sollte, um sowohl das Auftreten wie auch die Verschlechterung von kardiovaskulären Ereignissen zu verhindern. Zur Umsetzung dieser Empfehlung sollte zukünftig bereits bei unsicherem Diabetes-Status, wie Anzeichen des metabolischen Syndroms eine umfassende Untersuchung des Glukosestoffwechsels durchgeführt werden. Als integraler Bestandteil der weiteren Diagnostik bietet sich die regelmäßige Kontrolle der Trias HbA_{1c}, postprandialer Blutzuckerwert und Nüchternblutzuckerwert an.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Der α - Glucosidase Inhibitor Acarbose reduziert die diabetische Nephropathie, Retinopathie und Neuropathie. In der STOP-NIDDM Studie wurde darüber hinaus nachgewiesen, dass bereits bei Patienten mit gestörter Glukosetoleranz, d.h. ohne manifesten Diabetes, durch die Behandlung mit Acarbose eine signifikante Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse erzielt wird.

Die vorliegende Arbeit befasste sich daher mit dem Effekt von Acarbose auf die durch Ischämie und Reperfusion verursachten myokardialen Schäden nach Saccharosebelastung bei gesunden Mäusen in vivo. Methodisch wurden Versuchstieren sieben Tage vor myokardialer Ischämie und Reperfusion, entweder Placebo, Saccharose (4g/kg KG) oder Saccharose - Acarbose - Gemisch (10mg/kg KG) enteral über eine Schlundsonde verabreicht. Nach acht Tagen Vorbehandlung erfolgte dann eine 30 minütige Ischämie, gefolgt von 24 Stunden Reperfusion.

Acarbose verhinderte bei Mäusen wie erwartet den postprandialen Blutzuckeranstieg. Mit Saccharose behandelte Mäuse hatten im Vergleich zu Placebo-Tieren signifikant größere Infarktgröße (62,2+4.8% Infarkt/AAR zu 38,8+7.5% Infarkt/AAR, $p=0,03$), ein Effekt, der durch die Gabe von Acarbose aufgehoben werden konnte (Infarkt/AAR Saccharose zu Saccharose/Acarbose; 62,2+4,8% zu 30,7+7,2%, ($p=0,006$)).

Die Neutrophilen - Infiltration in das myokardiale Gewebe war in allen Gruppen ähnlich hoch. Der oxidative Stress dagegen, welcher durch erhöhte Konzentrationen von Lipidperoxidationsprodukten gemessen wurde, fiel in derjenigen Gruppe, welche ausschließlich Saccharose gefüttert bekam, signifikant erhöht aus.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lässt sich ableiten, dass eine wiederholte postprandiale Hyperglykämie bei nicht - diabetischen Tieren ausreicht, um die durch Ischämie und Reperfusion verursachten Myokardschäden signifikant zu erhöhen. Dies kann durch eine Behandlung mit dem α - Glucosidase - Hemmer Acarbose verhindert werden.

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AAR:	Area at risk
ACVB:	aortocoronarer Venenbypass
ADA:	American Diabetes Association
ADP:	Adenosindiphosphat
AMP:	Adenosinmonophosphat
ATP:	Adenosintriphosphat
CD 18-AK:	CD18-Antikörper (CD = cluster of differenciation)
CSE:	Cholesterolsynthese-Enzym
DDG:	Deutsche Diabetes Gesellschaft
DIGAMI:	Diabetes Insulin-Glukose Infusion in Acute Myocardial Infarction
HMG-CoA:	Hydroxymethyl-Glutaryl-Coenzym A
H ₂ O ₂ :	Wasserstoffperoxid
HPLC:	High-performance liquid chromatography
HTAB:	Hexadecyltrimethylammonium-Bromid
IB:	Infarktbereich
IFG:	Impaired Fasting Glucose
IGT:	Impaired Glucose Tolerance
KHK:	koronare Herzkrankheit
MERIA:	Metaanalysis of Risk Improvement under Acarbose
MDA:	Malondialdehyd
MDA-TBA:	Malondialdehyd-Thiobarbitur Acid
MI:	Myokardinfarkt
MPO:	Myeloperoxidase
MAbs:	monoclonal antibodies
NADPH:	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NIB:	Nichtinfarktbereich
oGTT:	oraler Glukosetoleranztest
PBS:	Phosphate buffered saline
PMN:	Polymorphkernige Neutrophile
PTCA:	Perkutane transluminare coronare Angioplastie

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

RIVA:	Ramus interventricularis anterior
ROS:	Reactive Oxygen Species
STOP NIDDM:	study to prevent non-insulin-dependent diabetes mellitus
rmp:	rounds per minute
SOD:	Superoxiddismutase
TACTICS:	Treat Angina with Agrastat and Determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservative Strategy
TIA:	Transitorisch ischämische Attacke
TMB:	3,3'-5,5'-Tetramethylbenzidin
TTC:	Triphenyltetrazoliumchlorid
UKPDS:	United Kingdom Prospective Diabetes Study
WHO:	World Health Organisation

8. LITERATURVERZEICHNIS

¹ King H., Aubert R.E., Herman W.H.: Global Burden of Diabetes, 1995-2025 Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 21 (1998): 1414-1431.

² Haffner S.M.: Impaired Glucose Tolerance, Insulin Resistance and cardiovascular Disease. *Diabetic Medicine/Journal of British Diabetic Association* 14 (1997) Vol.14, Suppl.3: 12-18.

³ United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose-control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* (1998) 352: 837-853.

⁴ Puls W., Keup U., Krause H.P., Thomas G., Hoffmeister F.: Glucosidase inhibition. A new approach to the treatment of diabetes, obesity, and hyperproteinaemia. *Naturwissenschaften* (1977) 64: 536-537.

⁵ Chiasson J.L., Josse R.G., Gomis R., Hanefeld M., Karasik A., Laakso M.: Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance. The STOP-NIDDM trial. *JAMA* (2003) 290: 486-494.

⁶ The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20 (1997): 1183-1197.

⁷ Alberti K., Zimmet P., for the WHO consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications, part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus - professional report of a WHO consultation. *Diabet Med* (1998) 15: 539-553.

⁸ Palitzsch A.D., Nusser J., Arndt H., Enger I., Zietz B., Cuk A., Schäffler A., Büttner R., Frick E., Rath H., Schömerich J.: Diabetomobil-Studiengruppe. Die Prävalenz des Diabetes mellitus wird in Deutschland deutlich unterschätzt - eine bundesweite epidemiologische Studie auf der Basis einer HbA1c-Analyse. *Diab. Stoffw.* (2000) 8: 189-200.

⁹ Pessin J.E., Saltiel A.R.: Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance *J Clin Invest.* (2000) 106(2): 165-169.

¹⁰ Martin S., Kolb H.: Pathogenese und Immuntherapie des Diabetes mellitus Typ 1. *Diabetes und Stoffwechsel* 7 (1998): 17-24.

- ¹¹ McGarry, Denis J.: What If Minkowski Had Been Ageusic? An Alternative Angle on Diabetes. *Science*, Volume 258, Issue 5083, (1992): 766-770.
- ¹² Frayn K.N., Coppack S.W., Humphreys S.M., Clark M.L., Evans R.D.: Periprandial regulation of lipid metabolism in insulin-treated diabetes mellitus. *Metabolism* (1993) 42: 504-510.
- ¹³ Reaven G.M.: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* (1988) 37: 1505-1607.
- ¹⁴ Zimmet P., Alberti K.G., Shaw J.: Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* (2001) 13; 414 (6865): 782-787.
- ¹⁵ Becker H., Becker R., Emmer J., Mandl H., Manus I.: „www.diabetespro.de - Serie Laborwerte Zuckerbelastungstest Untersuchungen“, Infografik: W&B/Möhle; Wort & Bild Verlag, Baierbrunn (2006).
- ¹⁶ Rathmann W., Haastert B., Icks A., Löwel H., Holle R., Giani G.: High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: Target populations for efficient screening. The KORA survey 2000. *Diabetologia* (2003) 46: 182-189.
- ¹⁷ Harris M.I.: Impaired glucose tolerance- prevalence and conversion to NIDDM. *Diabetic Med* (1996) 13 (Suppl): 9-11.
- ¹⁸ Kloner R.A., Ganote C.E., Whalen D.A. Jr, Jennings R.B.: Effect of a transient period of ischemia on myocardial cells. II. Fine structure during the first few minutes of reflow. *Am J Pathol.* (1974) Mar;74(3): 399-422.
- ¹⁹ Ezzati M., Van der Hoorn S., Rodgers A., Lopez A.D., Mathers C.D., Murray C.J.L., the Comparative Risk Assessment Collaborating Group: Estimates of global and regional potential health gains from reducing multiple major risk factors. *Lancet* (2003); 362: 271-280.
- ²⁰ de Marco R., Locatelli F., Zoppini G., Verlato G., Bonora E., Muggeo M.: Cause-specific mortality in type 2 diabetes: the Verona Diabetes Study. *Diabetes Care.* (1999) 22: 756-761.
- ²¹ Stamler J., Vaccaro O., Neaton J.D., Wentworth D.: Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care.* (1993) 16: 434-444.

- ²² Manson J.E., Colditz G.A., Stampfer M.J., Willet W.C., Krolewski A.S., Rosner B., Arky R.A., Speizer F.E., Hennekens C.H.: A prospective study of maturity-onset diabetes mellitus and risk of coronary heart disease and stroke in women. *Arch Intern Med.* (1991) 151: 1141-1147.
- ²³ Laakso M.: Hyperglycemia and vascular disease in type 2 diabetes. *Diabetes.* (1999) 48: 937-942.
- ²⁴ Mak K.H., Molterno D.J., Granger C.B., Miller D.P., White H.D., Wilcox R.G., Califf R.M., Topol E.J.: Influence of diabetes mellitus on clinical outcome in the thrombolytic era of acute myocardial infarction. GUSTO-I Investigators. Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries. *J Am Coll Cardiol* (1997) 30: 171-179.
- ²⁵ Schaper W., Gorge G., Winkler B., Schaper J.: The collateral circulation of the heart. *Prog Cardiovasc Dis* (1988) 31: 57 – 77.
- ²⁶ Cleutjens J.P., Blankesteyn W.M., Daemen M.J., Smits J.F.: The infarcted myocardium: simply dead tissue, or a lively target for therapeutic interventions. *Cardiovasc Res.* (1999) 44(2): 232-41.
- ²⁷ McNamara R.L., Herrin J., Bradley E.H., Portnay E.L., Curtis J.P., Wang Y., Magid D.J., Blaney M., Krumholz H.M., NRM I Investigators: Hospital improvement in time to reperfusion in patients with acute myocardial infarction, 1999 to 2002. *J Am Coll Cardiol.* (2006) 3;47(1): 45-51.
- ²⁸ Cannon C.P., Weintraub W.S., Demopoulos L.A., Vicari R., Frey M.J., Lakkis N., Neumann F.J., Robertson D.H., De Lucca P.T., Di Battiste P.M., Gibson M., Braunwald E.: Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *N Engl J Med* 344 (2001): 1879-1887.
- ²⁹ De Backer G., Ambrosioni E., Borch-Johnsen K., Brotons C., Cifkova R., Dallongeville J., Ebrahim S., Faergeman O., Graham I., Mancia G., Manger Cats V., Orth-Gomér K., Perk J., Pyörälä K., L Rodicio J., Sans S., Sansoy V., Sechtem U., Silber S., Thomsen T., Wood D. Other experts who contributed to parts of the guidelines, Albus C., Bages N., Burell G., Conroy R., Deter H.C., Hermann-Lingen C., Humphries S., Fitzgerald A., Oldenburg B., Schneiderman N., Uutela A., Williams R., Yarnell J. ESC Committee for Practice Guidelines, Priori S.G., Alonso Garcia M.A., Blanc J-J., Budaj A., Cowie M., Dean V., Deckers J., Burgos E.F., Lekakis J., Lindahl B., Mazzotta G., McGregor K., Morais J., Oto A., Smiseth O., Trappe H.-J. Document Reviewers, this document has been reviewed by experts, nominated by their societies, who were independent of the Task Force, Budaj A., Agardh C.-D., Bassand J.-P., Deckers J., Godycki-Cwirko M., Heagerty A., Heine R., Home P., Priori S., Puska P., Rayner M., Rosengren A., Sammut M., Shepherd J., Siegrist J., Simoons M., Tendera M., Zanchetti S.: European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Third Joint Task Force of European and other Societies on

Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of eight societies and by invited experts) *Eur Heart J* (2003) 24: 1601-1610.

³⁰ Riesen W.F., Darioli R., Noseda G., Bertel O., Buser P.: Für die Vorstände von AGLA und SGK. Empfehlungen zur Prävention der Atherosklerose. *Schweizerische Ärztezeitung*; (2005) 86; Nr.22: 1355-1361.

³¹ Malmberg K., Rydén L., Wedel H., Birkeland K., Bootsma A., Dickstein K., Efendic S., Fisher M., Hamsten A., Herlitz J., Hildebrandt P., MacLeod K., Laakso M., Torp-Pedersen C., Waldenström A.: DIGAMI 2 Investigators. Intense metabolic control by means of insulin in patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction (DIGAMI 2): effects on mortality and morbidity. *Eur Heart J.* (2005)26: 650-661.

³² Jennings R.B., Reimer K.: The cell biology of acute myocardial ischemia. *Annu. Rev. Med.* (1991) 42: 225-246.

³³ Jennings R.B., Yellon D.M.: Reperfusion injury: Definitions and clinical background. Hrsg. *Myocardial protection*, Raven Press Ltd., New York (1992): 1-12.

³⁴ Bolli R., Jeroudi M., Patel B., Aruoma O., Halliwell B., Lai E., McCay P.: Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion: evidence that myocardial stunning is a manifestation of reperfusion injury. *Circ. Res.* (1989) 65: 607-622.

³⁵ Tennant R., Wiggers C.J.: The effect of coronary occlusion on myocardial contraction. *Am. J. Physiol.* (1935) 112: 351-361.

³⁶ Maxwell S.R., Lip G.Y.: Reperfusion injury: a review of the pathology, clinical manifestations and therapeutic options. *Internat. J. Cardiol.* (1997) 58: 95-117.

³⁷ Becker L.B.: New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res* (2004) 61: 461-470.

³⁸ Granger D.: Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia reperfusion injury. *Am. J. Physiol.* (1988) 24: H1269-H1275.

³⁹ Kamata H, Hirata H.: Redox regulation of cellular signalling. *Cell Signal.* (1999) 11: 1-14.

- ⁴⁰ Firdlus R.K.: The generation of oxygen radicals: a positive signal for lymphocyte activation. *Cell Immunol* (1988) 113: 175-182.
- ⁴¹ Stohs S.J.: The role of free radicals in toxicity and disease. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* (1995) 6: 205-228.
- ⁴² Blasig I., Dickson B., Weglicki W., Kramer J.: Uncoupling of mitochondrial oxidative phosphorylation alters lipid peroxidation-derived free radical production but not recovery of post-ischemic rat hearts and post-hypoxic endothelial cells. *Mol. Cell. Biochem.* (1996) 161: 167-177.
- ⁴³ Gryglewski R., Palmer R., Moncada S.: Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* (1986) 320: 454-456.
- ⁴⁴ Galino P., Ragni M., Cirillo P.: Effects of tissue factor induced by oxygen free radicals on coronary flow during reperfusion. *Nat. Med.* (1996) 2: 35-40.
- ⁴⁵ Zweier J.L., Broderick R., Kuppusamy P., Thomson-Gorman S., Luty G.A.: Determination of the mechanisms of free radical generation in human aortic endothelial cells exposed to anoxia and reoxygenation. *J. Biol. Chem.* (1994) 269: 24156-24162.
- ⁴⁶ Zweier J.L., Flaherty J.T., Weisfeldt M.: Direct measurement of the free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (1987) 84: 1404-1407.
- ⁴⁷ Miwa K., Igawa A., Nakagawa K., Hirai T., Inoue H.: Consumption of vitamin E in coronary circulation in patients with variant angina. *Cardiovasc. Res.* (1999) 41: 291-298.
- ⁴⁸ Woo Y.J., Zhang J.C., Vijayarathy C.: Recombinant adenovirusmediated cardiac gene transfer of superoxide dismutase and catalase attenuates postischemic contractile dysfunction. *Circulation* (1998) 98: 255-260.
- ⁴⁹ Jordan J.E., Zhao Z.-Q., Vinten-Johansen J.: The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc. Res.* (1999) 43: 860-878.
- ⁵⁰ Frantz S., Calvillo L., Tillmanns J., Elbing I., Dienesch C., Bischoff H., Ertl G., Bauersachs J.: Repetitive postprandial hyperglycemia increases cardiac ischemia/reperfusion injury: prevention by the α -glucosidase inhibitor acarbose. *The FASEB Journal* (2005) 19:591-593.

- ⁵¹ Laube H.: Acarbose. An update of its therapeutic use in diabetes treatment. *Clin Drug Invest* (2002) 22: 141-56.
- ⁵² Pyörälä K., Laakso M., Uusitupa M.: Diabetes and atherosclerosis: an epidemiological view. *Diabetes Metab Rev* (1987) 3: 463-524.
- ⁵³ Chiasson J.L., Josse R.G., Gomis R., Hanefeld M., Karasik A., Laakso M.: Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet*. (2002) 359: 2072-2077.
- ⁵⁴ Michael L.H., Entman M.L., Hartley C.J., Youker K.A., Zhu J., Hall S.R., Hawkins H.K., Berens K., Ballantyne C.M.: Myocardial ischemia and reperfusion: a murine model. *AM J Physiol* (1995) 269: H2 147-H2154.
- ⁵⁵ Sandritter W., Jestädt R.: Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) als Reduktionsindikator zur makroskopischen Diagnose des frischen Herzinfarktes. *Verh. dtsh. Ges. Pathol.* (1958) 41: 165-170.
- ⁵⁶ Oyama J., Blais C., Jr., Liu X., Pu M., Kobzik L., Kelly R.A., Bourcier T.: Reduced myocardial ischemia-reperfusion injury in toll-like receptor 4-deficient mice. *Circulation* (2004) 109: 784-789.
- ⁵⁷ Austyn J.M., Gordon S.: F4/80, a monoclonal antibody directed specifically against the mouse macrophage. *Eur. J. Immunol.* (1981) 11: 805-815.
- ⁵⁸ Wong S.H., Knight J.A., Hopfer S.M., Zaharia O., Leach C.N.J., Sunderman-FW J.: Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem* (1987) 33: 214-220.
- ⁵⁹ Ye F., Shen Z., Xie M.: Alpha-glucosidase inhibition from a Chinese medical herb (*Ramulus mori*) in normal and diabetic rats and mice. *Phytomedicine* (2002) 9: 161–166.
- ⁶⁰ Wolever T.M., Chiasson J.L., Csima A., Hunt J.A., Palmason C., Ross S.A., Ryan E.A.: Variation of postprandial plasma glucose, palatability, and symptoms associated with a standardized mixed test meal versus 75 g oral glucose. *Diabetes Care* (1998) 21: 336–340.
- ⁶¹ Haffner S.M., Lehto S., Rönnemaa T., Pyörälä K., Laakso M.: Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetes subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* (1998) 339: 229-34.

- ⁶² Miettinen H., Lehto S., Salomaa V., Mahonen M., Niemala M., Haffner S.M., Pyorala K., Tuomilehto J.: Impact of diabetes on mortality after the first myocardial infarction. The FINMONICA Myocardial Infarction Register Study Group. *Diabetes Care* (1998) 21(1): 69-75.
- ⁶³ Feuvray D., Lopaschuk G.D.: Controversies on the sensitivity of the diabetic heart to ischemic injury: the sensitivity of the diabetic heart to ischemic injury is decreased. *Cardiovasc Res* (1997) 34: 113-120.
- ⁶⁴ Paulson D.J.: The diabetic heart is more sensitive to ischemic injury. *Cardiovasc Res* (1997) 34: 104-112.
- ⁶⁵ Ebel D., Mullenheim J., Frassdorf J., Heinen A., Huhn R., Bohlen T., Ferrari J., Sudkamp H., Preckel B., Schlack W., Thamer V.: Effect of acute hyperglycaemia and diabetes mellitus with and without short-term insulin treatment on myocardial ischaemic late preconditioning in the rabbit heart in vivo. *Pflugers Arch* (2003) 446: 175-182.
- ⁶⁶ Kersten J.R., Schmeling T.J., Orth K.G., Pagel P.S., Warltier D.C.: Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo. *Am J Physiol* (1998) 275: H721-725.
- ⁶⁷ Hu F.B., Stampfer M.J., Haffner S.M., Solomon C.G., Willett W.C., Manson J.E.: Elevated risk of cardiovascular disease prior to clinical diagnosis of type 2 diabetes. *Diab Care* (2002) 25: 1129-34.
- ⁶⁸ Albelda S.M., Buck C.A.: Integrins and other cell adhesion molecules. *Faseb J.* (1990) 4: 2868-2880.
- ⁶⁹ Palazzo A.J., Jones S.P., Girod W.G., Anderson D.C., Granger D.N., Lefer D.J.: Myocardial ischemia-reperfusion injury in CD18- and ICAM-1-deficient mice. *Am J. Physiol* (1998) 275: H2300-H2307.
- ⁷⁰ Vinten-Johansen J.: Involvement of neutrophils in the pathogenesis of lethal myocardial reperfusion injury. *Cardiovasc Res* (2004) 61: 481-497.
- ⁷¹ Vedder N., Harlan J.: Increased surface expression of CD11b/CD18 (Mac-1) is not required for stimulated neutrophil adherence to cultured endothelium. *J.Clin. Invest.* (1988) 81: 676-682.
- ⁷² Winquist R., Frei P., Harrison P., McFarland M., Letts G., Van G., Andrews L., Rothlein R., Hintze T.: An anti-CD-18 Mab limits infarct size in primates following ischaemia and reperfusion. *Circulation* (1990) 82 (suppl 3)III: 701.
- ⁷³ Jones S.P., Girod W.G., Granger D.N., Palazzo A.J., Lefer D.J.: reperfusion injury is not affected by blockade of P-selectin in the diabetic mouse heart. *Am J Physiol* (1999) 277: H763-769.

- ⁷⁴ Ceriello A., Mercuri F., Quagliaro L., Assaloni R., Motz E., Tonutti L., Taboga C.: Detection of nitrotyrosine in the diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia* (2001) 44: 834-838.
- ⁷⁵ Zuanetti G., Latini R., Maggioni A.P., Santoro L., Franzosi M.G.: Influence of diabetes on mortality in acute myocardial infarction: data from the GISSI-2 study. *J Am Coll Cardiol* (1993) 22: 1788-1794.
- ⁷⁶ Rodriguez B.L., Curb J.D., Burchfiel C.M., Huang B., Sharp D.S., Lu G.Y., Fujimoto W., Yano K.: Impaired glucose tolerance, diabetes, and cardiovascular disease risk factor profiles in the elderly. The Honolulu Heart Program. *Diabetes Care* (1996) 19: 587-590.
- ⁷⁷ Hanefeld S.M, Cagatay M., Petrowitsch T., Neuser D., Petzinna D., Rupp M.: Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies. *Eur Heart J* (2004) 25: 10-16.
- ⁷⁸ Tominaga M., Eguchi H., Manaka H., Igarashi K., Kato T., Sekikawa A.: Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata Diabetes Study. *Diabetes Care* (1999) 22: 920-924.

9. DANKSAGUNG

Mein Dank gilt:

Priv.-Doz. Dr. med. Stefan Frantz, der sich Zeit nahm, für eine stetige Betreuung meiner Arbeit und engagiert sowie geduldig weitere Anregungen gab. Die konstruktive Kritik und anregenden Diskussionen haben mir oft weiter geholfen.

Prof. Dr. G. Ertl für die freundliche Übernahme des Referates.

Allen Mitarbeitern des medizinischen Institutes für die stets unkomplizierte und nette Hilfe, insbesondere:

Charlotte Dienesch für die Präparation der Tiere.

Barbara Bayer und Helga Wagner für Ihre ausführlichen Erklärungen und sorgfältige Durchführung der laborchemischen Untersuchungen.

Meinem Freund Korbinian Gollnau für die Geduld, Unterstützung und Aufmunterung.

Meinen Eltern, meinen Geschwistern und meinen Freunden, für viele kleine und große Hilfeleistungen.

Ebenso sei allen denen ein Dankeschön ausgesprochen, die nicht namentlich Erwähnung fanden, mich aber im Zusammenhang mit dieser Arbeit fachlich unterstützt, inspiriert und weitergebracht haben.

10. LEBENS LAUF

Angaben zur Person

Name	Inka Lena Elbing
Geburtsdatum/-ort	14.08.1980 in Essen
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig, keine Kinder

Schullaufbahn

1987-1990	Grundschule Hörstmar, Nordrhein-Westfalen
1990-1991	Grundschule Friedrich-Ebert, Büdelsdorf / Schleswig-Holstein
1991-2000	Gymnasium Kronwerk, Rendsburg / Schleswig-Holstein
2000	Allgemeine Hochschulreife

Studium

09/2000-06/2002	Medizinstudium an der Semmelweis Universität Budapest
06/2002	Ärztliche Vorprüfung
10/2002-2006	Julius-Maximilians-Universität Würzburg
08/2003	1. Staatsexamen
09/2005	2. Staatsexamen
11/2006	3. Staatsexamen

LEBENS LAUF

Praktisches Jahr

17.10.05-05.02.06	Chirurgie: Inselspital Bern / Schweiz
06.02.06-28.05.06	Pädiatrie: Universitäts-Kinder-Klinik Würzburg
29.05.06-17.09.06	Innere Medizin: Medizinische Poliklinik Würzburg

Berufsausübung

Seit März 2007 als Ärztin in Weiterbildung im Fachbereich Innere Medizin im Standort Radebeul der Elblandkliniken Meißen-Radebeul tätig.

Veröffentlichungen

“Repetitive postprandial hyperglycemia increases cardiac ischemia/reperfusion injury: prevention by the alpha-glucosidase inhibitor acarbose”

Stefan Frantz, Laura Calvillo, Jochen Tillmanns, Inka Elbing, Charlotte Dienesch, Hilmar Bischoff, Georg Ertl and Johann Bauersachs (The FASEB Journal. 2005;19:591-593.)
