

Diplomarbeit

**Atherogene Marker bei Kindern und
Jugendlichen mit Typ 1 Diabetes im
Vergleich zu einer gesunden
Kontrollgruppe**

eingereicht von

Rubic Peter

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

Klinische Abteilung für Allgemeinpädiatrie

unter der Anleitung von

Univ.- Ass.ⁱⁿ OAⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med. univ. Hildegard Jasser-Nitsche

Priv.-Doz.ⁱⁿ OAⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med. univ. Elke Fröhlich-Reiterer

Graz, 4. November 2016

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 4. November 2016

Peter Rubic eh

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle recht herzlich bei meiner Betreuerin, OAⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med. univ. Hildegard Jasser-Nitsche, bedanken. Sie nahm meine Anliegen stets ernst, stand mir mit ihrem Wissen zur Seite und wies mir mit ihren Ratschlägen den Weg. Weiters bedanken möchte ich mich bei OAⁱⁿ Priv. Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ Elke Fröhlich-Reiterer, die meine Zweitbetreuung übernahm und ein offenes Ohr für meine Anliegen hatte. Großer Dank gilt Mag. rer. nat. Gerold Schwantzer für die Hilfestellung in statistischen Fragen sowie für die Durchführung statistischer Tests und Überprüfung der Sekundärhypothesen. Ebenso möchte ich Hr. Dr. Schlagenhauf Axel erwähnen und ihm für seine zusätzlichen Anregungen und Verbesserungsvorschläge danken.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei all meinen Studienkollegen sowie bei all meinen Freunden bedanken, die meine Studienzeit unvergesslich gemacht haben. Die Zeit, die wir miteinander verbrachten, spendete mir immer wieder Kraft und Motivation.

Auch meiner Freundin Alexandra möchte ich an dieser Stelle danken. Sie hatte stets ein offenes Ohr für meine Sorgen und half mir mit ihren motivierenden Worten bei dieser Arbeit.

Großer Dank gilt meiner Familie, die mir in stürmischen Zeiten Halt gab. Hierbei möchte ich besonders meiner Mutter, Helga Rubic, danken. Auch meine Tante Maria möchte ich an dieser Stelle erwähnen: Sie gab mir Kraft in schweren Zeiten während des Studiums. Meinem Onkel Ernst möchte ich danken, da er ein fachliches Vorbild darstellt und mich für die Medizin begeistern konnte.

Die letzten Zeilen möchte ich meinem Vater, Hans Rubic, widmen. Er ermöglichte mir dieses Studium und stand mir im ersten Studienjahr mit ganzem Herzen zur Seite. Mein größter Wunsch wäre es gewesen, dass du den Abschluss meines Studiums miterleben hättest können.

Zusammenfassung

Einleitung: Mikrovaskuläre und makrovaskuläre Veränderungen sind bekannte Langzeitkomplikationen bei PatientInnen mit Typ 1 Diabetes (T1D). Leukozyten spielen eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Atherosklerose, da eine chronische Entzündung als eine der Ursachen angenommen wird. Hohe Neutrophilen- und niedrige Lymphozytenwerte stellen ein erhöhtes Risiko für Arteriosklerose dar. Daher geht eine erhöhte Neutrophile-zu-Lymphozyten-Ratio (NLR) mit einem ungünstigen kardiometabolischen Profil einher und konnte bereits als Marker für kardiovaskuläre Erkrankungen im Erwachsenenalter und bei Kindern ohne Diabetes mellitus herangezogen werden. Daraus ergab sich die Frage, ob die NLR bei Kindern und Jugendlichen mit T1D erhöht und somit ein nützlicher Marker zur Detektion beginnender Arteriosklerose sein könnte.

Methoden: In einer retrospektiven Analyse wurden die Daten von 121 Kindern (61 Buben, 60 Mädchen) mit T1D und 121 gesunden Kindern verglichen. C-reaktives-Protein (CRP) über 10 mg/L und diabetische Folgeerkrankungen stellte ein Ausschlusskriterium dar.

Ergebnisse: Bei Kindern und Jugendlichen mit T1D fand sich eine niedrigere NLR ($1,96 \pm 2,80$ vs. $2,53 \pm 1,93$; $p < 0,001$; mittleres Alter $12,06$ Jahre $\pm 3,92$; mittlere Diabetesdauer $4,77$ Jahre $\pm 3,17$; mittlerer HbA1c-Wert $66,6$ mmol/mol $\pm 12,11$) als bei gesunden Kindern ($12,12$ Jahre $\pm 3,97$). Diese waren durch die signifikant erniedrigten Neutrophilenwerte bei den PatientInnen mit T1D bedingt ($3,17 \pm 1,19$ versus (vs.) $4,92 \pm 2,62$; $p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Die NLR ist bei Kindern und Jugendlichen mit T1D zur frühen Identifizierung der Arteriosklerose ungeeignet, da PatientInnen mit T1D eine verringerte Anzahl an zirkulierenden neutrophilen Granulozyten aufweisen. Als Grund dafür werden immunologische Ursachen diskutiert.

Abstract

Introduction: Micro- and macrovascular diseases are well known longterm complications in patients with type 1 diabetes (T1D)-patients. Leucocytes play a major role in initiation and progression of atherosclerosis. Chronic inflammatory state is considered as a reason. High neutrophil and low lymphocyte counts are associated with higher risk of atherosclerosis. Hence, higher Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) is related with unfavourable cardiometabolic profile and is shown to be a marker for atherosclerosis in adults and children without T1D. Several markers are discussed to be useful for identification of early subclinical atherosclerosis. The aim of this study was to evaluate if NLR is increased in children and adolescents with T1D and could be used as useful marker for detection of early atherosclerosis.

Methods: In a retrospective analysis we compared data of 121 children and adolescents (61 boys and 60 girls) with T1D and 121 healthy children and adolescents. C-reactive protein of more than 10 mg/dL and diabetic long-term complications were considered as exclusion criteria.

Results: We found lower NLR in patients with T1D ($1,96 \pm 2,80$ vs. $2,53 \pm 1,93$; $p < 0,001$; mean age 12,06 years $\pm 3,92$; mean duration of diabetes 4,77 years $\pm 3,17$ SD; mean HbA_{1c} 66,6 mmol/mol $\pm 12,11$) compared to healthy children (12,12 years $\pm 3,97$ SD). This difference was due to statistically significant lower neutrophil counts in children and adolescents with T1D ($3,17 \pm 1,19$ vs. $4,92 \pm 2,62$; $p < 0,001$).

Conclusion: NLR should not be used for identification of early atherosclerosis because of lower circulating neutrophil counts in children with T1D. Immunological reasons are discussed.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Hintergrund	1
1.2	Formen des Diabetes mellitus	2
1.2.1	Definition	2
1.2.2	Klassifikation des Diabetes mellitus	3
1.3	Typ 1 Diabetes	4
1.3.1	Definition	4
1.3.2	Äthiopathogenese	4
1.3.3	Epidemiologie	6
1.3.4	Diagnostik	7
1.3.5	Insulintherapie	11
1.4	Spätkomplikationen des T1D	15
1.4.1	Diabetische Mikroangiopathie	15
1.4.2	Diabetische Makroangiopathie	20
1.4.3	Pathogenese diabetischer Angiopathien	22
1.5	Beispiele Atherogener Marker	24
1.5.1	Framingham-Risk-Score	24
1.5.2	Carotis-Intima-Media-Thickness	25
1.5.3	Endotheldysfunktion	25
1.5.4	Zirkulierende Marker der Endothelfunktion	27
1.5.5	Neutrophile-zu-Lymphozyten-Ratio	28
2	Methoden	33
2.1	Hypothesen	33
2.2	PatientInnen	33

2.3	Ein- und Ausschlusskriterien	34
2.4	Studiendesign	35
2.5	Matching	35
2.6	Datensammlung	35
2.7	Anonymisierung und Datenschutz	36
2.8	Statistische Auswertung	36
2.9	Ethikkommission	36
3	Ergebnisse	37
3.1	Deskriptive Statistik	37
3.1.1	Geschlechter- und Altersverteilung	37
3.1.2	Biometrische Daten	40
3.1.3	Neutrophile Granulozyten und Lymphozyten	41
3.1.4	NLR	43
3.1.5	CRP-Verteilung	45
3.1.6	Diabetesdauer	47
3.1.7	Parameter des Glukosestoffwechsels	48
3.1.8	Lipidstoffwechsel	49
3.2	Statistische Tests	52
3.3	Korrelationen und Regressionen	54
4	Diskussion	58
4.1	Interpretation der Ergebnisse	58
4.2	Stärken und Limitationen	60
4.3	Conclusio	61
	Referenzen	67

Abbildungsverzeichnis

1.1	Hyperglykämie-induzierte mitochondriale Überproduktion von Super-oxiden als zentrales Element in der Entstehung diabetischer Folgeerkrankungen	24
3.1	Geschlechterverteilung der T1D-PatientInnen	38
3.2	Geschlechterverteilung der Kontrollgruppe	38
3.3	Altersverteilung der T1D-PatientInnen	39
3.4	Altersverteilung der Kontrollgruppe	39
3.5	NLR-Verteilung der T1D-PatientInnen	44
3.6	NLR-Verteilung der Kontrollgruppe	45
3.7	CRP-Verteilung der T1D-PatientInnen	46
3.8	CRP-Verteilung der Kontrollgruppe	46
3.9	Verteilung der Diabetesdauer der T1D-PatientInnen	47
3.10	HbA _{1c} -Verteilung der T1D-PatientInnen	48
3.11	Gesamtcholesterin-Verteilung der T1D-PatientInnen	49
3.12	HDL-Cholesterin-Verteilung der männlichen T1D-Patienten	50
3.13	HDL-Cholesterin-Verteilung der weiblichen T1D-Patientinnen	50
3.14	Triglycerid-Verteilung der T1D-PatientInnen	51

Tabellenverzeichnis

1.1	Definition und Diagnose-Kriterien von Diabetes mellitus	3
1.2	Insuline und deren Eigenschaften	12
1.3	Mikroangiopathien und deren Risikofaktoren	19
1.4	Risiko kardiovaskulärer Ereignisse in Abhängigkeit vom CRP	27
2.1	Hypothesen	33
2.2	Ein- und Ausschlusskriterien	35
3.1	Neutrophile Granulozyten und Lymphozyten der T1D-PatientInnen und der Kontrollgruppe	42
3.2	NLRs beider Gruppen	44
3.3	Statistische Auswertung der einzelnen Parameter	53
3.4	Korrelation verschiedener Parameter mit der NLR	55
3.5	Regression der NLR mit verschiedenen Parametern	56
3.6	Multiple Regressionen der NLR mit geeigneten Parametern	57

Glossar und Abkürzungen

- ACR** Albumin/Kreatinin Ratio
- ADA** American Diabetes Association
- ADP** Adenosin-Diphosphat
- AER** Albumin excretion rate
- AGEs** Advanced Glycosilation End Products
- ATP** Adenosin-Triphosphat
- BMI** Body-Mass-Index
- BZ** Blutzucker
- bzgl.** bezüglich
- bzw.** beziehungsweise
- C-Peptid** Connecting-Peptid
- CIMT** Carotis-Intima-Media-Thickness
- CRP** C-reaktives-Protein
- CSII** Continuous subcutaneous insulin infusion
- CTL** zytotoxische T-Zelle
- CVD** kardiovaskuläre Erkrankung
- DNS** Desoxyribonukleinsäure

- GAD** Glutamatsäuredekarboxylase
- GAPDH** Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase
- GFR** Glomeruläre Filtrationsrate
- HDL** High Density Lipoprotein
- HIP** Hybrid-Insulin-Peptid
- IA-2** Thyrosinphosphataseautoantikörper
- IAA** Insulinautoantikörper
- ICA** Inselzellautoantikörper
- ISPAD** International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes
- KHK** koronare Herzkrankheit
- LDL** Low Density Lipoprotein
- MDI** multiple daily injection
- NAD** Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
- NK-Zellen** natürliche Killerzellen
- NLR** Neutrophile-zu-Lymphozyten-Ratio
- NPG** Nüchtern-Plasma-Glukose
- NPH** Neutral-Protamin-Hagedorn
- OGTT** oraler Glukose-Toleranz-Test
- PAI** Plasminogen-Aktivator-Inhibitor
- Regr.-koeff.** Regressionskoeffizient
- ROS** Reaktive Sauerstoffspezies
- SD** Standardabweichung

T1D Typ 1 Diabetes

T2D Typ 2 Diabetes

Th T-Helfer-Zellen

TNF Tumor Nekrose Faktor

Treg regulatorische T-Zelle

vs. versus

ZnT8 Zink-Transporter-8-Autoantikörper

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

T1D gehört zu den häufigsten chronischen Stoffwechselerkrankungen bei Kindern und Jugendlichen [1]. Die Inzidenz von T1D nahm weltweit in den letzten Jahrzehnten zu [1]. 1989 bis 2003 wurde in 17 europäischen Ländern die Inzidenz von T1D untersucht [2]. Hierbei zeigte sich über alle Altersgruppen zwischen 0 und 15 Jahren ein jährlicher Anstieg der Inzidenz um 3,9%. Falls dieser Trend anhält, könnte sich die Anzahl neuer Fälle bei Kindern unter fünf Jahren bis 2020 verdoppeln [2].

Personen mit T1D besitzen ein erhöhtes Risiko für diabetische Mikro- und Makroangiopathien und somit für kardiovaskuläre Erkrankungen (CVDs) [1, 3]. Dennoch sind nicht alle pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren, T1D und CVDs zur Gänze geklärt [3]. CVD-Ereignisse treten bei Personen mit T1D früher als in der Normalbevölkerung auf. Kinder und Jugendliche mit T1D zeigen bereits innerhalb des ersten Jahrzehnts ihrer Erkrankung subklinische CVD-Veränderungen [3]. Daher wurden mehrere Biomarker zur Identifikation des subklinischen Atheroskleroserisikos bei PatientInnen mit T1D untersucht [3–5].

In den letzten Jahren hat die Erforschung neutrophiler Granulozyten zunehmend an Bedeutung bei chronisch entzündlichen Prozessen, wie Atherosklerose, gewonnen [6]. Sie spielen eine große Rolle bei Wachstum, Erosion und Ruptur atherosklerotischer Läsionen [6, 7]. Auch Lymphozyten spielen eine Rolle in der Entstehung von Atherosklerose [8].

Die Erhöhung der NLR bei Erwachsenen ohne Diabetes [9] bildet die Grundlage für die Annahme, dass die NLR bei Kindern mit T1D, in Abhängigkeit von Dauer der Erkrankung und Stoffwechselkontrolle, erhöht ist. Aufgrund dessen wird in dieser Arbeit untersucht, ob sich die NLR auch als Marker für atherosklerotische Veränderungen bei Kindern mit T1D eignet.

Im ersten Teil der Arbeit soll ein Überblick über T1D und den Zusammenhang mit Atherosklerose und CVDs gegeben werden [3]. Im zweiten Teil der Arbeit werden die Ergebnisse der, an der Medizinischen Universität Graz durchgeführten, Studie „Atherogene Marker bei Kindern und Jugendlichen mit Typ 1 Diabetes im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe“ präsentiert, anschließend diskutiert und mit derzeitigen Studienergebnissen verglichen.

1.2 Formen des Diabetes mellitus

1.2.1 Definition

Diabetes mellitus ist eine komplexe metabolische Erkrankung, die mit einer chronischen Hyperglykämie einhergeht [10]. Ursachen können eine Störung der Insulinsekretion oder Insulinwirkung sein [10]. Als Folge der chronischen Hyperglykämie können Langzeitschäden speziell in Augen, Nerven, Herz, Nieren und Blutgefäßen auftreten [11].

Insulin senkt den Blutzuckerspiegel und wird von den β -Zellen in der Bauchspeicheldrüse ausgeschüttet. Sie zählen zum endokrinen Anteil des Pankreas und stellen 70% der Inselzellen dar. Ein Anstieg der Blutzuckerkonzentration führt zur Sekretion von Insulin [12].

Die Definition des Diabetes mellitus umfasst folgende in Tabelle 1.1 dargestellte Grenzwerte [13]:

Nüchtern-Plasma-Glukose (NPG)	≥ 126 mg/dL beziehungsweise (bzw.) 7,0 mmol/L
oraler Glukose-Toleranz-Test (OGTT)	2-h-Glukose-Wert ≥ 200 mg/dL bzw. 11,1 mmol/L
Gelegenheits-Blutzucker (BZ) mit klassischen Symptomen einer Hyperglykämie oder hyperglykämischen Krise	≥ 200 mg/dL bzw. 11,1 mmol/L
HbA_{1c}	$\geq 6,5\%$ bzw. 48 mmol/mol

Tabelle 1.1: Definition und Diagnose-Kriterien von Diabetes mellitus (modifiziert nach [13])

1.2.2 Klassifikation des Diabetes mellitus

Nach Ätiologie kann Diabetes mellitus nach der American Diabetes Association (ADA) in 4 Klassen eingeteilt werden [11]:

- T1D
- Typ 2 Diabetes (T2D)
- Schwangerschaftsdiabetes
- andere Diabetesformen

Beim T1D kommt es zur Zerstörung der β -Zellen. Dies führt zu einem absoluten Mangel an Insulin [11].

T2D kann von Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis zu einer Störung der Insulinsekretion mit Insulinresistenz reichen. 90 bis 95 % der Fälle von Diabetes mellitus weisen diesen Diabetestyp auf [11].

Andere Diabetesformen können durch genetische Defekte der β -Zellen, genetische Defekte der Insulinwirkung, Erkrankungen des exokrinen Pankreas, Endokrinopathien, Medikamente, Infektionen, seltene Formen des autoimmunologischen Diabetes mellitus und andere genetische Syndrome, die mit Diabetes mellitus einhergehen können, hervorgerufen werden [11].

Als Gestationsdiabetes bezeichnet man jene Formen von Diabetes, welche im zweiten oder dritten Trimenon der Schwangerschaft auftreten und keiner anderen Diabetesform zuordenbar sind [13].

Im Kindes- und Jugendalter ist der T1D die vorherrschende Form [3]. Deshalb und da sich diese Arbeit mit der NLR bei Kindern und Jugendlichen mit T1D beschäftigt, wird in den nachfolgenden Kapiteln nur auf diesen ausführlich eingegangen.

1.3 Typ 1 Diabetes

1.3.1 Definition

T1D ist gekennzeichnet durch die Zerstörung der β -Zellen der Patienten, die zum absoluten Insulinmangel führt [11].

1.3.2 Ätiopathogenese

Inselzellautoimmunität wird als Persistenz von Autoantikörpern gegen pankreatische Inselzellantigene beschrieben. Dies könnte den ersten Schritt in der Entstehung von T1D darstellen [14]. Inselzellautoimmunität entsteht bereits in der frühen Kindheit und hat ihren Höhepunkt im zweiten Lebensjahr. Entwickeln Kinder zwei oder mehr Antikörper gegen Inselzellen (Siehe Kapitel 1.3.4.4) so erkranken 70% dieser Kinder innerhalb der nächsten 10 Jahre an T1D [14]. Dennoch kann man Autoantikörper nur in 70 bis 90% der PatientInnen nachweisen [1]. Dadurch lässt sich zwischen Typ 1A und Typ 1B unterscheiden, wobei nur Typ 1A Autoantikörper aufweist. Die Pathogenese

von Typ 1B bleibt unklar [1] und wird auch als idiopathischer T1D bezeichnet [13]. Hierbei liegen keine Hinweise auf Autoimmunität, wie etwa Autoantikörper, vor [13]. Mögliche Auslöser dieser Autoimmunreaktion könnten Infektionen, Impfungen, Toxine oder Ernährung sein [14].

Frühere Studien richteten die Aufmerksamkeit auf Viren und deren Einfluss auf die Entstehung von T1D [14]. Mehrere Viren standen in Verdacht T1D auszulösen. Es wurden Hinweise gefunden, dass besonders Enteroviren an der Pathogenese von T1D beteiligt sein könnten. Diese Viren weisen einen Tropismus für pankreatische Inselzellen, sowohl in Vitro als auch in Vivo, auf [14]. Seltener werden auch bakterielle Infektionen als Auslöser diskutiert [14].

Einige Einflussfaktoren, wie beispielsweise Geburt per sectionem oder Antibiotika, sind eng mit der Entwicklung der Darmflora verknüpft [14]. Durch die Darmflora werden Lipid-, Glukosestoffwechsel sowie Immunsystem und systemische Entzündungsprozesse auch außerhalb des Gastrointestinaltraktes beeinflusst. Das Mikrobiom könnte somit das Risiko für T1D mitbestimmen [14]. Für den Beweis dieser Theorie werden allerdings weitere Studien benötigt [14].

In skandinavischen Ländern wurde hohes Geburtsgewicht und schnelle Gewichtszunahme im 12. bis 18. Lebensmonat mit T1D assoziiert. In Amerika und Deutschland konnte dieser Effekt jedoch nicht nachgewiesen werden [14]. Die als Accelerator-Hypothese bezeichnete Theorie geht davon aus, dass übermäßige Gewichtszunahme zu einer Insulinresistenz in der frühen Kindheit führt und den Autoimmunprozess triggern könnte [14].

Die β -Zell-Stress-Hypothese besagt, dass ein erhöhter Insulinbedarf eine wichtige Rolle in der Entstehung von T1D spielen könnte. Ein erhöhter Insulinbedarf kann durch schnelles Wachstum, Übergewicht, Infektionen, Pubertät, Verletzungen und psychischen Stress, sowie durch ein Überangebot an Glukose hervorgerufen werden. Psychischer Stress führt nicht nur zu einem erhöhten Insulinbedarf, sondern beeinflusst über die Cortisolausschüttung auch das Immunsystem [14].

Rewers und Ludvigsson entwickelten ein Modell, welches den Einfluss der Umweltfaktoren auf die Zellen des Pankreas zusammenfasst [14]:

Systemische Faktoren (Hyperglykämie, Insulinresistenz und übermäßige Zufuhr von Glukose) steigern Proinsulinsynthese und -umsatz. Zusätzlich beeinflussen lokale Faktoren (Toxine, Infektionen und Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)) die pankreatischen β -Zellen. Beide Einflussfaktoren führen auf diese Weise zu einer Überlastung des endoplasmatischen Retikulums in den β -Zellen [14]. Dadurch kommt es zur Synthese nicht funktionsfähiger Proteine sowie Hybrid-Insulin-Peptide (HIPs) und zur Degradierung von Proinsulin-Peptiden [14]. HIPs gehören zu einer neuen Klasse natürlich vorkommender Autoantigene. Sie werden T-Zell-Rezeptoren als Neoautoantigene präsentiert und können dadurch die Autoimmunreaktion sowohl auslösen als auch aufrecht erhalten. Somit könnte die HIP-Synthese für den Verlust der Selbsttoleranz bei T1D verantwortlich sein [14]. Dadurch könnte erklärt werden, wie β -Zell-Stress die Autoimmunreaktion auslöst [14].

1.3.3 Epidemiologie

Weltweit ist die Inzidenz und Prävalenz von T1D sehr unterschiedlich [1]. 1990 startete die World Health Organisation das Multinational Project for Childhood Diabetes [15]. In dieser Studie untersuchte man die Inzidenz von T1D bei Kindern bis zum Alter von 14 Jahren in 57 Ländern. Dabei stellte sich heraus, dass in 70% der asiatischen Bevölkerungsgruppe die Inzidenz mit unter 1/100000/Jahr sehr gering ist. In der afrikanischen Bevölkerung war die Inzidenz mit 1-9/100000/Jahr niedrig bis mittelhoch. In Europa fand sich eine sehr hohe Inzidenz von bis zu 41/100000/Jahr. Ebenso zeigte sich in Nordamerika eine sehr hohe Inzidenz von bis zu 25/100000/Jahr [15]. Der Grund für diese geographischen Unterschiede bzw. für den Anstieg der Inzidenz von T1D ist noch unbekannt [1]. Mögliche Ursachen hierfür könnten Umweltfaktoren [1, 15] oder auch Gen-Umwelt-Interaktionen sein [15].

Den starken Anstieg der Inzidenz von T1D konnte man jedoch nahezu weltweit beobachten: Im Zeitraum von 1990 bis 1999 stieg sie um 2,8 % pro Jahr [15].

In Finnland findet man seit 1950 die höchste Inzidenz von T1D weltweit [16]. Sie betrug im Zeitraum 1980 bis 2005 bei Kindern unter 15 Jahren 42,9/100000/Jahr. Am höchsten war der Anstieg bei Kindern im Alter von 0-4 Jahren. Speziell in der

zweiten Hälfte der 1990er Jahre kam es zu einem rasanten Anstieg der Inzidenz. Dies könnte ein ernstzunehmendes Zeichen für Veränderungen in der Umwelt sein, welche die Penetranz von T1D-Genen verändern [16].

Die Prävalenz verhielt sich gleichermaßen. In der amerikanischen Studie- „The SEARCH for Diabetes in Youth Study“ - beobachtete man einen Anstieg der Prävalenz von T1D im Zeitraum von 2001 bis 2009 bei Kindern unter 20 Jahren um 21,1% [17].

1.3.4 Diagnostik

Typische Anamnese, Klinik und Messung der Blutglukose bilden die Grundlage für die Diagnostik eines Diabetes mellitus [10]. Zusätzlich kann eine bestehende Glucosurie oder Ketonurie mittels Harnstreifentest festgestellt werden. Alternativ können BZ und Ketone auch mit einem BZ-Messgerät bestimmt werden. Falls Ketone im Blut oder im Urin nachgewiesen werden, sollte eine Behandlung unverzüglich erfolgen, da sich rasch eine Ketoazidose entwickeln kann [10].

Diabetes mellitus kann entweder anhand der Plasma-Glukose-Kriterien oder der HbA_{1c}-Kriterien diagnostiziert werden [11, 13] (siehe Kapitel 1.3.4.2).

1.3.4.1 Klinik

Atkinson spricht von Polydypsie und Polyurie zu Erkrankungsbeginn [1]. Weitere Symptome umfassen Nykturie, Enuresis und Gewichtsverlust, welche mit verschwommener Sicht einhergehen können. Zusätzliche Zeichen der chronischen Hyperglykämie können außerdem Wachstumsstörungen und eine vermehrte Infektanfälligkeit sein [10].

Die schwerste Manifestation besteht in der Entwicklung einer diabetischen Ketoazidose bzw. eines nichtketoazidotischen hyperosmolaren Syndroms, welche zu Koma und, bei Ausbleiben einer adäquaten Behandlung, sogar zum Tode führen kann [10].

1.3.4.2 Plasma-Glucose-Kriterien

Der Plasma-Glukose-Wert kann einerseits als NPG oder im Rahmen eines OGTT bestimmt werden [13]. Beim OGTT wird der Glukose-Wert zwei Stunden nach Einnahme einer Glukose-Lösung bestimmt. Hierbei werden 1,75 g pro Kilogramm Körpergewicht, maximal jedoch insgesamt 75 g verabreicht [10]. Der NPG wird nach acht Stunden Nüchternheit bestimmt [10]. Die Referenzwerte können Tabelle 1.1 (Kapitel 1.2.1) entnommen werden. Falls eindeutige Symptome fehlen, sollten zur Diagnose des Diabetes mellitus anhand der Plasma-Glukose-Kriterien beide Tests wiederholt werden [13].

1.3.4.3 HbA_{1c}-Kriterium

HbA₁ entsteht aus der Glykierung von HbA₂ in zwei Schritten. Es handelt sich hierbei, im Unterschied zur Glykosylierung, um eine nichtenzymatische Kondensation [18]. Aldimin entsteht im ersten, schnellen Schritt. Hierbei handelt es sich um eine reversible Reaktion. Im zweiten, langsameren Schritt, findet die als Amadori-Umlagerung bezeichnete Reaktion des Aldimins statt. Dabei entsteht die stabile Ketoaminform HbA_{1c}. Die Geschwindigkeit mit der Aldimin in den Erythrozyten gebildet wird, hängt von der BZ-Höhe ab [18].

Weiters gehen aus den Amadori-Produkten Advanced Glycosilation End Products (AGEs) hervor. Diese sind maßgeblich an der Pathogenese diabetischer Mikroangiopathien beteiligt [18].

Der HbA_{1c}-Wert gibt den durchschnittlichen Glukoselevel der letzten zwei bis drei Monate wieder [11]. Er ist mit mikrovaskulären und, in geringerem Maße, mit makrovaskulären Komplikationen verknüpft und wird als Standard-Marker zur Stoffwechselkontrolle verwendet [11]. Früher wurde dieser Marker von einigen Expertenkommissionen als nicht zur Diagnose von Diabetes mellitus geeignet beschrieben. Grund hierfür war die mangelnde Standardisierung der HbA_{1c}-Analyse [11]. Mittlerweile wurde der HbA_{1c}-Wert standardisiert und wird zur Diagnose von Diabetes mellitus empfohlen. Auch die ADA unterstützt diese Entscheidung [11]. Ein Vorteil des HbA_{1c}-Wertes liegt im erhöhten PatientInnenkomfort, da diese nicht nüchtern erscheinen müssen. Außerdem

handelt es sich hierbei um einen stabileren Marker, der durch Krankheit und Stress weniger beeinflusst wird als der NPG. Dem gegenüber stehen eine geringere Verfügbarkeit in Entwicklungsländern und höhere Kosten [11, 13]. Trotz klassischer Symptome ist der HbA_{1c}-Wert bei schneller Entwicklung des Diabetes mellitus nicht nennenswert erhöht [10, 11]. Des Weiteren sollte die Bestimmung mit einer Methode durchgeführt werden, welche durch die Referenztests des Diabetes Control and Complications Trial nachvollziehbar ist oder durch das National Glycohemoglobin Standardisation Program standardisiert wurde [11, 13]. Auch dieser Test sollte bei Fehlen einer typischen Symptomatik wiederholt werden [13]. Die Referenzwerte sind in Tabelle 1.1 (Kapitel 1.2.1) dargestellt.

1.3.4.4 Serologie

Zur Unterscheidung zwischen verschiedenen Diabetesformen können auch diabetesassoziierte Autoantikörper bestimmt werden [10]. Diese Autoantikörper umfassen [10, 11, 13]:

- Inselzellautoantikörper (ICA)
- Insulinautoantikörper (IAA)
- Glutamatsäuredekarboxylase (GAD)
- Thyrosinphosphataseautoantikörper (IA-2)
- β -Zell spezifische Zink-Transporter-8-Autoantikörper (ZnT8)

Bei 85 bis 90% aller Personen mit Hyperglykämie, die mittels NPG diagnostiziert wurde, können ein oder mehrere dieser Autoantikörper nachgewiesen werden [11].

1.3.4.5 Connecting-Peptid

Das Connecting-Peptid (C-Peptid) wird im Rahmen der Insulinsynthese von Proinsulin in äquimolarem Verhältnis abgespalten und sezerniert. Da es die Funktion der β -Zellen repräsentiert, eignet sich das C-Peptid als Marker für die endogene Insulinsynthese [19]. Außerdem unterliegt das C-Peptid einem nur geringen First-Pass-Effekt durch die Leber und wird durch eine exogene Insulingabe nicht beeinflusst [19].

Erhöhte C-Peptid-Spiegel ermöglichen es, junge PatientInnen mit nicht-autoimmun bedingtem, insulinresistenten T2D von PatientInnen mit T1D zu unterscheiden [10]. In der Akutphase wird die C-Peptid-Messung jedoch nicht empfohlen, da es im ersten Jahr nach Diagnose zu Überschneidungen der gemessenen Insulin- bzw. C-Peptid-Spiegel zwischen T1D und T2D kommen kann [10]. Die C-Peptid-Messung sollte bei insulinbehandelten PatientInnen bei einem ausreichend hohen Glukose-Level von über 8 mmol/L erfolgen [10]. Dadurch werden die β -Zellen zur Insulinsekretion und somit zur C-Peptid-Produktion angeregt. So kann mittels C-Peptid-Messung bei PatientInnen unter Insulintherapie eine endogene Insulinproduktion gemessen werden. Bei Kindern mit T1D nach der Remissions-Phase ist eine endogene Insulinsekretion selten. [10].

1.3.4.6 Harnanalyse

Da physiologisch geringe Mengen Glukose im Urin ausgeschieden werden können, gelten erst Konzentrationen von 30 mg/dL und mehr als Glukosurie. Liegen Werte von über 30 mg/dL vor, sollte immer eine Abklärung auf Diabetes mellitus erfolgen [18].

Bei Kindern treten manchmal passagere Glukosurien auf, welche meist im Rahmen von Krankenhausaufenthalten beobachtet werden können [18]. Hierbei liegt kein manifester Diabetes oder Tubulopathie als Ursache vor. Dies kann entweder durch eine vorübergehende Verringerung der tubulären Glukoserückresorption oder durch eine vorübergehende diabetische Stoffwechsellage hervorgerufen werden [18]. Passagere diabetische Stoffwechsellagen können durch Stress im Rahmen von Verletzungen, Operationen oder

durch übermäßige Infusionen von Glukose ausgelöst werden [18]. Vorrübergehende Hyperglykämien während Infektionen, Verletzungen, kardiovaskulären Stress und psychischen Stress sollten nicht mit Diabetes mellitus verwechselt, sondern näher abgeklärt werden [10].

1.3.5 Insulintherapie

Die Therapie des T1D besteht in der Substitution von Insulin [20].

Mit der Insulintherapie sollte so bald als möglich nach Diagnosestellung begonnen werden, um eine metabolische Dekompensation oder diabetische Ketoazidose zu verhindern. Jede Art von Insulintherapie sollte außerdem von Schulungen, die Alter, Reife und individuellen Bedürfnissen von Kind und Familie angepasst sind, begleitet werden [20]. In jedem Alter muss das Ziel die optimale BZ-Einstellung sein. Dabei sollte die Zufuhr von Insulin dem physiologischen Insulinprofil möglichst ähnlich sein. Misch-Insuline sind für Kinder nicht empfohlen [20]. Für die meisten PatientInnen, einschließlich Personen mit einem erhöhten Risiko von Hypoglykämien, sollten Insulinanaloga verwendet werden [21].

Grundsätzlich sollte eine intensivierete Therapieform angestrebt werden. Die Insulindosis sollte außerdem an tageszeitliche BZ-Schwankungen angepasst werden. Die intensivierete Insulintherapie kann entweder mittels multiple daily injection (MDI) oder Continuous subcutaneous insulin infusion (CSII) mit Dosisanpassung erfolgen. Durch diese Therapieform kann das vaskuläre Risiko vermindert werden [20].

Die Wahl des Therapieschemas hängt grundsätzlich von Alter, Diabetesdauer, Lebensstil, individuellen Präferenzen und metabolischen Zielbereichen ab [20]. Im Diabetes Control and Complications Trial konnte gezeigt werden, dass eine intensivierete Insulintherapie die BZ-Kontrolle und das Outcome gegenüber der konventionellen Insulintherapie verbessern können [21].

Die International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) empfiehlt für Kinder und Jugendliche mit Diabetes mellitus einen HbA_{1c}-Wert von **unter 7,5%** bzw. **58 mmol/mol** [22].

1.3.5.1 Insulin und Insulinanaloga

Folgende Insuline stehen zur Verfügung (Tabelle 1.2):

<i>Insulin</i>		<i>Wirkungsbeginn (Stunden)</i>	<i>Wirkdauer (Stunden)</i>	<i>Wirkungs- maximum (Stunden)</i>
Schnellwirksame Insulinanaloga (Aspart, Lispro, Lispro)	Insuline, Glulisine	0,15 bis 0,35	3 bis 5	1 bis 3
Normalinsulin		0,5 bis 1	5 bis 8	2 bis 4
Intermediärinsuline		1 bis 2	8 bis 16	4 bis 10
Neutral-Protamin-Hagedorn (NPH)-Insulin		2 bis 4	12 bis 24	4 bis 12
<i>Basal- und langwirksame Insulinanaloga</i>				
Glargine		2 bis 4	24	keiner
Detemir		1 bis 2	20 bis 24	6 bis 12

Tabelle 1.2: Insuline und deren Eigenschaften (modifiziert nach [20])

1.3.5.2 Konventionelle Insulintherapie

Hierbei wird entweder ein Intermediärinsulin oder eine Mischung bestehend aus Intermediärinsulin und Normalinsulin verabreicht. Um eine zufriedenstellende BZ-Kontrolle zu erreichen sind mindestens 2 Injektionen pro Tag notwendig [23]. Bei der konventionellen Insulintherapie sollten 2/3 bis 3/4 der Tagesdosis vor dem Frühstück appliziert werden. Der Rest wird vor dem Abendessen gespritzt. Der Nachteil dieses

Schemas ist eine mangelhafte Flexibilität, da sich der Patient an feste Essenszeiten halten muss [23].

1.3.5.3 Basis-Bolus-Therapie

Bei der Basis-Bolus-Therapie werden 40 bis 60% der Insulindosis als Basalinsulin verabreicht, der Rest in Form von schnellwirksamen Insulinaloga oder Normalinsulin. *Normalinsulin* sollte bei Bedarf 20 bis 30 Minuten vor der Mahlzeit verabreicht werden [20]. *Schnellwirksame Insulinaloga* können abhängig vom BZ unmittelbar vor oder nach der Mahlzeit appliziert werden [20]. *Intermediärinsulin* oder *Basal-* können zweimal täglich (morgens und abends) bzw. *langwirksame Insulinaloga* einmal (vor dem Schlafengehen) verwendet werden [20].

1.3.5.4 Continuous subcutaneous insulin infusion oder Pumpentherapie

CSII weist eine gute Steuerbarkeit auf [18] und ist derzeit die Therapieform, die der physiologischen Insulinsekretion am ähnlichsten ist. Sie wird daher als physiologische Insulinersatztherapie verwendet. Die neueren Generationen von Insulinpumpen berechnen selbst die Menge an zu verabreichendem Insulin abhängig von der Kohlenhydratzufuhr und der notwendigen BZ-Korrektur [20]. Die Insulinpumpentherapie birgt jedoch auch Risiken: Bei fehlender Schulung und Therapieadhärenz kann es, bei Unterbrechung der Insulinzufuhr, zum plötzlichen Anstieg von Ketonen kommen. Grund hierfür ist ein kleineres Depot an subkutanem Insulin als bei der MDI [20].

Insulin wird über einen Katheter in den Körper infundiert [18]. Verglichen zur MDI mit NPH-Insulin senkt die CSII Hypoglykämien und verbessert die BZ-Kontrolle [20]. Die CSII kann bei gleichbleibend hohen HbA_{1c}-Werten, zur Verbesserung der Lebensqualität oder bei häufigen ausgeprägten Hypoglykämien als Alternative zur MDI-Therapie verwendet werden [20]. Bei PatientInnen mit häufigen nächtlichen Hypoglykämien oder rezidivierenden schweren Hypoglykämien kann eine sensorunterstützte Pumpentherapie in Erwägung gezogen werden [21]. Hierbei wird der BZ-Spiegel kontinuierlich über einen Sensor gemessen. Bei drohender Hypoglykämie stoppt die Pumpe selbst die Zufuhr von Insulin [20].

1.3.5.5 Insulindosis

Täglicher Insulinbedarf und Dosierung hängen von Gewicht, Alter, täglicher Routine, Dauer und Phase des Diabetes ab. Ebenso beeinflussen Krankheit, Ergebnisse der BZ-Messungen, HbA_{1c}-Wert, Pubertät, Injektionsstelle, Einnahme von Mahlzeiten und Trainingszustand den Bedarf an Insulin [20].

Nach Beginn der Insulintherapie kommt es bei ungefähr 80% aller Kinder und Jugendlichen mit T1D zu einem Absinken des Insulinbedarfs [24]. Hinter dieser partiellen Remission, oder auch Honeymoon-Phase genannt, wird eine partielle Erholung der β -Zellen und verbesserte periphere Insulinsensitivität vermutet. Die Dauer dieser Phase kann Wochen bis Jahre betragen [24].

Die ideale Insulindosis erreicht die bestmöglichen Stoffwechselkontrolle bei Kindern oder Jugendlichen, ohne hypoglykämische Komplikationen hervorzurufen und ein optimales Wachstum zu ermöglichen [20].

In der partiellen Remissionsphase reicht oft eine tägliche Menge an Insulin von unter 0,5 IU/kg/Tag. Kinder, welche sich vor Beginn der Pubertät und außerhalb der Remissionsphase befinden, benötigen meist eine tägliche Insulindosis von 0,7 bis 1 IU/kg/Tag. Während der Pubertät kann die tägliche Insulindosis auf 1,2 bis 2 IU/kg/Tag steigen [20]. Die benötigte Dosis unterliegt jedoch starken individuellen Schwankungen [20].

1.3.5.6 Dawn-Phänomen

Der Anstieg des BZ-Spiegels am Morgen, kurz vor dem Aufwachen, bezeichnet man als Dawn Phänomen. Der Grund des Dawn Phänomens ist eine gesteigerte nächtliche Wachstumshormonsekretion, erhöhte Insulinresistenz und gesteigerte Glukoseproduktion. Diese Mechanismen verstärken sich in der Pubertät [20]. Bei PatientInnen mit T1D kommt es durch die Verminderung des Insulinspiegels zu einer Hyperglykämie, wodurch das Dawn Phänomen verstärkt wird [20].

Um den Insulinspiegel über Nacht ausreichend hoch zu halten, können Intermediär-Insuline am späteren Abend oder ein langwirksames Insulin oder Insulinanalogon in

der Nacht verabreicht werden [20]. Weiters stellt das Dawn Phänomen eine Indikation für CSII dar (siehe Kapitel 1.3.5.4) [20].

1.4 Spätkomplikationen des T1D

T1D stellt einen erheblichen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse dar [25]. Das Fortschreiten von Atherosklerose ist bei T1D-PatientInnen beschleunigt und auch die Mortalität infolge kardiovaskulärer Ereignisse erhöht [26]. Symptomatische vaskuläre Komplikationen im Kindes- und Jugendalter sind selten [22]. Dennoch sollte besonders in dieser Zeit eine intensive Behandlung und Therapie erfolgen, um den Beginn und das Fortschreiten mikro- und makrovaskulärer Komplikationen im späteren Erwachsenenalter zu unterbinden. Des Weiteren kann das Risiko für das Fortschreiten vaskulärer Komplikationen durch eine Verbesserung der BZ-Einstellung reduziert werden [22].

Die Langzeitkomplikationen von Diabetes mellitus können in diabetische Mikro- und Makroangiopathie unterteilt werden [27].

1.4.1 Diabetische Mikroangiopathie

Diabetische Mikroangiopathien umfassen Nephro-, Neuro-, und Retinopathien [28].

Retinopathie, Nephropathie und Neuropathie werden selten bei Kindern vor Beginn der Pubertät und einer Diabetesdauer von unter zwei Jahren beobachtet. Sie können jedoch nach Beginn der Pubertät und nach einer Krankheitsdauer von fünf bis zehn Jahren auftreten [29].

1.4.1.1 Diabetische Nephropathie

Die Definition der diabetischen Nephropathie umfasst eine Proteinurie von über 500 mg/24 Stunden oder eine Albuminurie mit über 300 mg/24 Stunden und ist häufig mit Bluthochdruck und Verminderung der Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) assoziiert. Bei jungen Erwachsenen mit T1D ist sie der Hauptgrund für Morbidität und Mortalität [22]. Die ISPAD empfiehlt deshalb ein jährliches Screening auf diabetische Nephropathie. Dieses erfolgt in Form eines Tests auf Mikroalbuminurie ab einem Alter von 10 Jahren oder ab Beginn der Pubertät, falls diese früher eintritt und die Dauer der Erkrankung zwischen zwei bis fünf Jahren liegt [22]. Die diabetische Nephropathie verläuft zunächst asymptomatisch und entwickelt sich von einer Mikroalbuminurie zur einer Makroalbuminurie bis hin zum terminalen Nierenversagen [27].

Erste Zeichen einer diabetischen Nephropathie ist ein Anstieg der Albuminexkretion und kann sich folgendermaßen zeigen [22]:

- Albuminkonzentration im Morgenharn zwischen 30 und 300 mg/L
- Albumin excretion rate (AER) zwischen 20 und 200 $\mu\text{g}/\text{min}$
- AER zwischen 30 und 300 mg/L in 24 Stunden
- Albumin/Kreatinin Ratio (ACR) zwischen 2,5 und 25 mg/mmol in männlichen bzw. zwischen 3,5 und 25 mg/mmol in weiblichen PatientInnen

Die jüngsten Empfehlungen der ADA definieren eine persistierende Albuminurie in zwei Grade, welche die Begriffe „Mikro-“ bzw. „Makroalbuminurie“ ersetzen. Die Referenzbereiche für die persistierende Albuminurie liegen dabei für den einen Grad zwischen 30 und 299 mg/24 Stunden und für den anderen über 300 mg/24 Stunden [22].

Die Progression der diabetischen Nephropathie kann durch optimale BZ-Kontrolle minimiert werden. Zusätzlich sollte auch eine optimale Blutdruckkontrolle angestrebt werden. [28]. ACE-Hemmer bzw. Angiotensin-Rezeptor-Blocker werden zur Behandlung von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus und Bluthochdruck empfohlen [22]. Der Einsatz dieser Medikamente sollte erwogen werden, wenn eine erhöhte

AER von 30 bis 299 mg/Tag vorliegt. Dringlich empfohlen wird der Einsatz von ACE-Hemmern oder Angiotensin-Rezeptor-Blockern für PatientInnen mit einer AER von über 300 mg/Tag oder bei einer geschätzten GFR von unter 60 mL/min/1,73 m² [28]. ACE-Hemmer bzw. Angiotensin-Rezeptor-Blocker sind nicht zur Primärprevention von diabetischer Nephropathie bei Diabetes-PatientInnen mit normalem Blutdruck, ACR und normaler GFR empfohlen [28]. Sie sollen jedoch bei persistierender Mikroalbuminurie eingesetzt werden, um ein Fortschreiten der Proteinurie zu verhindern [22]. Bei jungen Diabetes-PatientInnen sollten ACE-Hemmer und Angiotensin-Rezeptor-Blocker aufgrund ihrer langen Einnahmedauer und Nebenwirkungen mit Bedacht eingesetzt werden [22].

1.4.1.2 Diabetische Retinopathie

Das Spektrum diabetischer Retinopathien umfasst die nicht-proliferative und proliferative Retinopathie sowie das diabetische Makulaödem [22]. Die schwerste Form stellt die proliferative Retinopathie dar. Im Rahmen dieser Komplikation erblinden PatientInnen innerhalb von 5 bis 10 Jahren [30].

Jugendliche besitzen ein höheres Risiko für eine visusgefährdende Retinopathie als Erwachsene mit Diabetes [22]. Der Grund dafür könnte sein, dass eine größere Anzahl an β -Zellen erhalten ist, wenn der T1D im Erwachsenenalter ausbricht [30].

Das Alter, in welchem sich der T1D manifestiert, beeinflusst das Risiko, eine proliferative Retinopathie zu entwickeln [30]. Hietala K. et al. konnten zeigen, dass das höchste Risiko für diese Komplikation bei einer T1D-Erstmanifestation im Alter zwischen 5 bis 14 Jahren liegt, das niedrigste Risiko im Alter von 15 bis 40 Jahren [30].

Die ISPAD empfiehlt jährliche Screening-Untersuchungen auf diabetische Retinopathie ab einem Alter von 10 Jahren oder ab Beginn der Pubertät, falls diese früher eintritt und die Dauer der Erkrankung zwei bis fünf Jahre beträgt. Die Untersuchung sollte in Form einer Fundus-Fotografie oder einer Ophthalmoskopie erfolgen [22]. Eine Intervention kann in Form einer Lasertherapie und durch eine Verbesserung der BZ-Kontrolle

erfolgen [22]. Beim diabetischen Makulaödem mit Beteiligung des Zentrums sollte eine Behandlung mit intravitrealen Anti-Vascular endothelial growth factor-Antikörper durchgeführt werden [28].

1.4.1.3 Diabetische Neuropathie

Die diabetische Neuropathie kann sowohl das periphere als auch das vegetative Nervensystem betreffen [22]. Periphere Neuropathien können wiederum in generalisierte, fokale und multifokale Neuropathien eingeteilt werden. Beispiel für die fokale periphere Neuropathie sind das Karpaltunnelsyndrom oder Lähmung des dritten Hirnnerven [22].

Der Begriff „diabetische Neuropathie“ wird meist für die diabetische sensomotorische Polyneuropathie verwendet, welche die häufigste generalisierte Neuropathie darstellt [22]. Dabei handelt es sich um eine diffuse Schädigung aller peripheren Nerven, die sowohl sensorische und motorische als auch vegetative Nervenfasern betreffen kann. Die sensormotorische Polyneuropathie führt zunächst zum Verlust der Sensibilität und später der Motorik [22]. Eine Schädigung des autonomen Nervensystems kann sich in Form von Übelkeit, Erbrechen, Blasenlähmung oder orthostatischer Hypotension äußern. Klinische Manifestationen autonomer Neuropathien sind bei pädiatrischen PatientInnen selten. Asymptomatische Zeichen können jedoch bereits kurz nach der Diagnose von Diabetes in Form veränderter Herzfrequenzvariabilität gefunden werden [22].

Die ADA empfiehlt für T1D-PatientInnen eine Untersuchung auf periphere diabetische Neuropathien fünf Jahre nach T1D-Diagnose. Danach sollten jährliche Kontrollen erfolgen [28]. Die Screening-Untersuchung sollte dabei eine Anamnese mit Berücksichtigung von Parästhesien, Taubheit und persistierende Schmerzen und eine klinische Untersuchung mit Evaluation des Vibrations-, Berührungsempfindens und des Achillessehnenreflexes umfassen [22]. Das vegetative Nervensystem kann mit Hilfe der Herzfrequenz-Variabilität unter verschiedenen Bedingungen überprüft werden [22].

1.4.1.4 Risikofaktoren für diabetische Mikroangiopathien

Folgende Risikofaktoren tragen zur Entstehung diabetischer Mikroangiopathien bei (Tabelle 1.3):

<i>Mikroangiopathie</i>	<i>Risikofaktor</i>
Retinopathie	Hyperglykämie, Bluthochdruck, hoher Body-Mass-Index (BMI), Dyslipidämien
Nephropathie	Bluthochdruck, Dyslipidämien, Rauchen
Neuropahtie	Hyperglykämie, hoher BMI

Tabelle 1.3: Mikroangiopathien und deren Risikofaktoren (modifiziert nach[22])

1.4.2 Diabetische Makroangiopathie

Der Begriff „Makroangiopathie“ umfasst degenerative Veränderungen der mittleren und großen Arterien, verursacht durch Atherosklerose [31].

1.4.2.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Makroangiopathien äußern sich hauptsächlich in Form der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, koronarer Herzerkrankung und zerebrovaskulären Insuffizienz [32]. CVD tritt immer häufiger als Makroangiopathie auf, da die Lebenserwartung von Personen mit T1D steigt. Bei T1D kann das relative Risiko einer CVD um das 10-fache erhöht sein als bei Personen ohne Diabetes mellitus [1]. CVD ist eine Langzeitkomplikation von T1D und stellt ein Problem für PatientInnen und Gesundheitssystem dar [3]. In den USA werden die von T1D verursachten Kosten auf 14,4 bis 14,9 Milliarden Dollar geschätzt [1]. CVD-Risikofaktoren sind bei Kindern mit T1D häufiger zu finden als in der übrigen Bevölkerung. Man geht davon aus, dass 14 bis 45% aller Kinder mit T1D zwei oder mehr Risikofaktoren aufweisen [3].

Zu einem erhöhten CVD-Risiko tragen folgende Faktoren bei [3]:

- Hyperglykämie
- Diabetische Nephropathie
- Dyslipidämie
- Hypertonie
- Prähypertonie
- Thromboseprohylaxe
- Übergewicht und Insulinresistenz

Insbesondere Cholesterin trägt in großem Maße zur Initiation und Progression von Atherosklerose bei, da eine schlechte BZ-Kontrolle mit einem potenziell stärker atherogen wirkenden Lipidprofil einhergeht [22]. Der Beginn von Atherosklerose liegt bereits im Kindes- und Jugendalter. Dies konnte einerseits durch Messungen der Intima-Media-Dicke von Karotiden und Aorta, andererseits durch den Nachweis asymptomatischer atherosklerotischer koronarer Veränderung mittels intravaskulären Ultraschalls bei Kindern und jungen Erwachsenen gezeigt werden [22].

1.4.2.2 Prävention vaskulärer Komplikationen bei T1D-PatientInnen

Das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen kann durch die Vermeidung von Rauchen, optimale Einstellung von BZ, Lipiden und Blutdruck sowie durch einen gesunden Lebensstil mit sportlicher Aktivität und Gewichtsoptimierung reduziert werden [27].

Hypertonie hat bei T1D-PatientInnen schwerere Auswirkungen als bei stoffwechselgesunden Menschen [22]. Der Blutdruck sollte routinemäßig bei jedem Krankenhausbesuch bestimmt werden, wobei immer drei Messtage zur Diagnostik herangezogen werden sollen [33]. Blutdruckwerte werden, entsprechend dem Alter, Geschlecht und Körpergröße, über der 90. Perzentile als hochnormal, über der 95. Perzentile als Hypertonie bezeichnet [33]. Hochnormale Blutdruckwerte sollten mittels Ernährungsumstellung, Bewegung und Gewichtskontrolle therapiert werden. Falls nach drei bis sechs Monaten keine Normalisierung des Blutdruckes erreicht wird, sollte pharmakologisch interveniert werden [33]. Bei hohen Blutdruckwerten sollte zusätzlich zur Lebensstiländerung eine pharmakologische Therapie mit ACE-Hemmer oder Angiotensin-Rezeptor-Blockern erfolgen. Als Ziel sollten Blutdruckwerte unter der 90. Perzentile angestrebt werden [33].

Bei **Dyslipidämien** sind Statine zur Primär- und Sekundärprävention größerer kardiovaskulärer Ereignisse wirksam. Simvastatin, Lovastatin und Pravastatin sind sicher und effektiv bei Kindern und Jugendlichen [22]. Bis jetzt gibt es noch keine Algorithmen, die zur Bestimmung des Risikos für kardiovaskuläre Erkrankungen breitflächig eingesetzt werden. Eine Methode zielt darauf ab, dieselben Strategien für Diagnostik

und Risikoevaluation koronarer Herzerkrankungen für Personen mit T1D anzuwenden wie für die übrige Bevölkerung [3].

1.4.3 Pathogenese diabetischer Angiopathien

Eine Rolle in der Entstehung diabetischer Angiopathien spielen oxidativer Stress, Entzündung und Hyperkoagulabilität [34]. Auch neutrophile Granulozyten könnten eine Schlüsselrolle in sterilen Entzündungen, wie Atherosklerose, darstellen [6].

Oxidativer Stress entsteht in Folge einer Hyperglykämie-induzierten Überproduktion von Superoxiden durch die mitochondriale Elektronentransportkette (Abbildung 1.1) [34]. Durch die Hyperglykämie kommt es zum Ungleichgewicht zwischen der Bioverfügbarkeit von Stickoxiden und der Anhäufung von ROS. Dies wiederum führt zur endothelialen Dysfunktion und Entzündung und trägt somit zur Entstehung diabetischer Komplikationen bei [35]. Die durch die Hyperglykämie hervorgerufenen Superoxidationen inaktivieren Stickoxide und bilden Peroxynitrit. Peroxynitrit ist ein starkes Oxidationmittel, welches in der Lage ist, Phospholipid-Membranen zu durchdringen [35]. Außerdem schädigt Peroxynitrit die Desoxyribonukleinsäure (DNS) [34].

Der DNS-Schaden induziert eine Polymerase, was zu einem Abfall der intrazellulären Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD)-Konzentration führt. Dies hemmt die Glykolyse, den Elektronentransport und die Bildung von Adenosin-Triphosphat (ATP) [34]. Des Weiteren wird die Adenosin-Diphosphat (ADP)-Ribosylierung der Glyceraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) gefördert. Diese Faktoren induzieren letztendlich die akute endotheliale Dysfunktion und tragen so zu den Folgeerkrankungen von Diabetes mellitus bei [34]. Jarvisalo et al. konnten außerdem zeigen, dass die endotheliale Dysfunktion Kinder mit T1D für eine frühzeitige Entwicklung von Atherosklerose prädisponiert [25].

Der vermehrten Produktion von ROS in den Mitochondrien kommt somit eine zentrale Rolle in der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen zu, da es ein Bindeglied zwischen Hyperglykämie und den biochemischen Prozessen darstellt. Diese lösen verschiedenste Prozesse, wie etwa die Entstehung von AGEs, die Aktivierung der Proteinkinase C und NF- κ B-vermittelte Entzündung der Gefäße aus [35].

Grundsätzlich nehmen entzündliche Prozesse eine zentrale Rolle in der Entstehung von Atherosklerose ein [36]. Anhand bestimmter Daten kann angenommen werden, dass diese Prozesse insbesondere bei PatientInnen mit T1D stärker ausgeprägt sind als bei einer, nicht an Diabetes mellitus erkrankten, Kontrollgruppe [3]. Außerdem wird vermutet, dass ein Anstieg inflammatorischer Zytokine zur Instabilität von Plaques bei Diabetes-PatientInnen beiträgt [34]. Die Mechanismen, welche zur Entzündung beitragen, sind vielseitig und umfassen Hypo- und Hyperglykämie, ausgeprägte Adipositas, eine veränderte Körperfettverteilung, Adipokine und Thrombose [3]. Während einer Hypoglykämie sind mehrere inflammatorische Marker, wie CRP, Interleukin-6, Interleukin-8, Endothelin-1 und Tumor Nekrose Faktor (TNF)- α erhöht. Die Anhäufung inflammatorischer Zytokine wird als Ursache für die Endothelschädigung und veränderte Gerinnung vermutet und führt dadurch zum Anstieg des CVD-Risikos [34].

Hyperkoagulopathie resultiert entweder aus einer Veränderung des Spiegel der Gerinnungsfaktoren, deren Aktivität oder einer Kombination aus beiden [34]. Hierbei sind die prokoagulatorischen Gerinnungsfaktoren erhöht, die fibrinolytisch wirksamen sind vermindert. Grund für das thrombotische Milieu ist die durch Hyperinsulinämie induzierte gesteigerte Synthese prothrombotischer Gerinnungsfaktoren, wie etwa Fibrinogen und Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI)-1 [34]. Außerdem führt Diabetes mellitus auch zur Veränderung der Gerinnungsfaktoren, wie Glykierung und Oxidation, wodurch das thrombotische Risiko steigt [34].

Jugendliche mit T1D und einem suboptimalen HbA_{1c}-Wert weisen höhere Lipid-Profile als Jugendlichen einer stoffwechselgesunden Kontrollgruppe oder Jugendliche mit T1D und einer optimalen Stoffwechselkontrolle auf [4]. Zusätzlich sind T1D-PatientInnen empfindlicher für Schäden durch oxidativen Stress und weisen eine High Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterin-Dysfunktion auf. Des Weiteren wurden höhere Apolipoprotein B- und Low Density Lipoprotein (LDL)-Cholesterin-Spiegel bei T1D-PatientInnen unabhängig von der BZ-Einstellung als in einer gesunden Kontrollgruppe beobachtet [4].

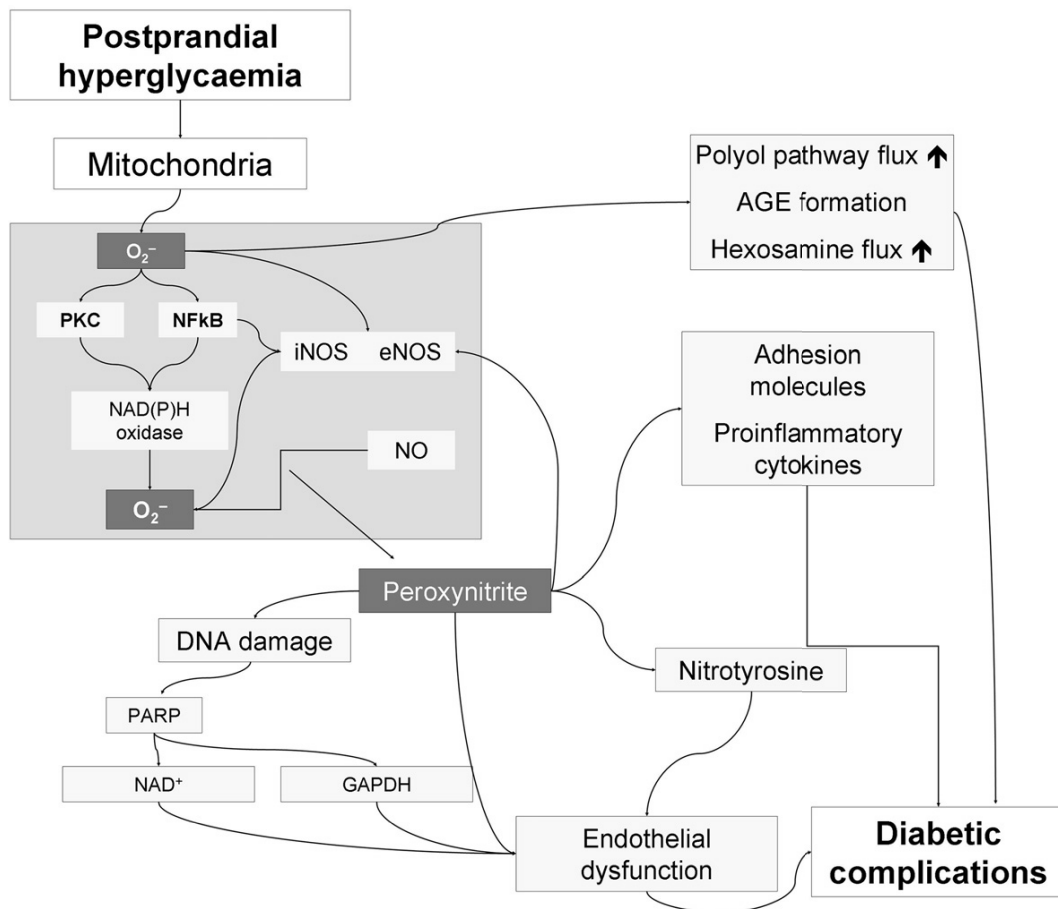


Abbildung 1.1: Hyperglykämie-induzierte mitochondriale Überproduktion von Superoxiden als zentrales Element in der Entstehung diabetischer Folgeerkrankungen (Quelle: Schnell et al. [34])

1.5 Beispiele Atherogener Marker

1.5.1 Framingham-Risk-Score

Der Framingham-Risk-Score entstand im Rahmen der 1948 begonnenen Framingham Heart Study. Dieser Risiko-Score ist der älteste und am weitesten verbreitete zur Berechnung des absoluten Risikos für kardiovaskuläre Erkrankungen. Die erste Formel ging 1967 aus der Framingham Heart Study hervor [37]. Er gibt die Wahrscheinlichkeit

eine koronare Herzkrankheit (KHK) zu entwickeln, in Form eines 10-Jahres-Risikos an [23].

Traditionelle Verfahren, wie der Framingham-Risk-Score, berücksichtigen Parameter wie Alter, Geschlecht, Hypertonie, Diabetes, Rauchen und Hyperlipidämie. Dennoch können diese Methoden nicht bei allen Individuen das Risiko eine KHK zu entwickeln korrekt ermitteln [9]. Im Falle des Framingham-Risk-Scores wurden nur Amerikaner im mittleren Alter zur Generierung des Scores eingeschlossen und repräsentieren somit nur eine einzige Bevölkerungsgruppe. Ein weiterer Kritikpunkt ist, dass die in diese Studie eingeschlossenen Personen ein hohes Risiko für CVDs hatten [37].

1.5.2 Carotis-Intima-Media-Thickness

Eine verlässliche und nichtinvasive Methode, um strukturelle und funktionelle atherosklerotische Veränderungen in den Wänden der Arterien nachzuweisen, stellt der hochauflösende Ultraschall dar [25]. Eine vergrößerte Carotis-Intima-Media-Thickness (CIMT) ist ein struktureller Marker für frühe Atherosklerose. Diese geht mit vaskulären Risikofaktoren einher und steht im Zusammenhang mit Schwere und Ausmaß von Erkrankungen der Koronararterien. Somit kann durch die CIMT das kardiovaskuläre Risiko in Bevölkerungsgruppen vorhergesagt werden [25].

1.5.3 Endotheldysfunktion

Endotheldysfunktion ist charakterisiert durch einen proinflammatorischen Zustand in Form einer vermehrten Expression von Zytokinen und Chemokinen, einer verminderten Vasodilatation und einer erhöhten Durchlässigkeit des Endothels [38]. Eine endotheliale Dysfunktion könnte möglicherweise das erste Ereignis der Entstehung atherosklerotischer Läsionen darstellen. So könnte die Evaluierung der Endothelfunktion ein nützliches Instrument zur Prognose koronarer Herzerkrankungen darstellen [39].

1.5.3.1 Endotheliale Vasomotorik

Die Endothelfunktion kann durch Messung der Reaktionen der Endothelzellen auf vasoaktive Substanzen bestimmt werden. Beim Menschen kann die endothelvermittelte Vasodilatation in der koronaren oder peripheren Durchblutung bestimmt werden [39].

Die koronare endothelvermittelte Vasodilatation kann durch angiographische Messung des Durchmessers nach Infusion vasoaktiver Substanzen, wie etwa Acetylcholin, Serotonin, Bradykinin oder Substanz P, gemessen werden [39]. Bei gesunden PatientInnen kommt es zu NO-vermittelter Vasodilatation. Im Falle einer endothelialen Dysfunktion ist dieser Effekt reduziert oder es kommt zum Auftreten einer paradoxen Vasokonstriktion. Diese Methode zur Evaluierung der Endothelfunktion ist jedoch durch Invasivität, hohe Kosten und eingeschränkte Verfügbarkeit limitiert. Störungen des koronaren Endothels spiegeln sich in Veränderungen der peripheren Vasodilatation wider und erlauben somit indirekt eine Messung der koronaren Vasomotorik [39].

Die periphere Endothelfunktion wird nichtinvasiv mittels Ultraschall der Armarterie bestimmt [39]. Hierbei wird für fünf Minuten eine Blutdruckmanschette angelegt, auf einen Standarddruck aufgeblasen und somit der Blutfluss unterbunden. Wird die Manschette gelöst, kommt es zu einer reaktiven Hyperämie, welche aus einer, durch Scherbelastung induzierten, NO-Freisetzung mit Vasodilatation resultiert. Dies wird als Flussmedierte Vasodilatation bezeichnet [39].

1.5.3.2 Entzündungsmarker

Heier et. al. konnten zeigen, dass Inflammation, hervorgerufen durch Hyperglykämie, eine wichtige Komponente im beschleunigten Ablauf atherosklerotischer Prozesse bei T1D ist [26]. Chronische Entzündung führt, im Zusammenspiel mit veränderten Lipoproteinen, T-Zellen, Makrophagen und normalen Bestandteilen der Arterienwand, zur endothelialen Dysfunktion [39].

In verschiedenen prospektiven epidemiologischen Studien konnte gezeigt werden, dass mittels CRP eine Vorhersage über Myokardinfarkt, periphere arterielle Verschlusskrankheit, plötzlicher Herztod oder Schlaganfall getroffen werden kann [40]. Dabei

werden die CRP-Werte über weitverbreitete high-sensitivity-CRP-Assays ermittelt. Bezogen auf die klinische Anwendung besitzt CRP eine bessere Prognosekraft bezüglich CVDs als LDL-Cholesterin [40]. Die Höhe des CRP korreliert dabei mit dem Risiko von CVDs (Tabelle 1.4). Personen mit einem LDL-Cholesterin unter 130 mg/dL und einem CRP-Wert über 3 besitzen ein hohes kardiovaskuläres Risiko, werden aber in der klinischen Praxis häufig übersehen [40]. CRP-Werte über 10 mg/L sollten nicht zur Interpretation des vaskulären Risikos herangezogen werden [40].

Risiko	CRP in mg/L
niedrig	unter 1
mittel	1 bis 3
hoch	über 3

Tabelle 1.4: Risiko kardiovaskulärer Ereignisse in Abhängigkeit vom CRP (modifiziert nach [40])

Weitere inflammatorische Marker, die im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen stehen, sind Interleukin-6, TNF- α und lösliches p-Selektin sowie das lösliche Interzelluläre-Adhäsions-Molekül-1. Dennoch hat sich das high-sensitivity-CRP als der aussagekräftigste Parameter hinsichtlich zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse erwiesen [39].

1.5.4 Zirkulierende Marker der Endothelfunktion

Die Messung von Stoffen endothelialen Ursprungs kann zur Evaluation der Endothelfunktion herangezogen werden [41]. Eine Veränderung dieser Stoffe kann nach Aktivierung der Endothelzellen gemessen werden. Dies können Stickoxide, inflammatorische Zytokine, Adhäsionsmoleküle, Thromboseregulatoren und Marker für Endothelschäden oder Endothelreparatur sein. Da jedoch die Bestimmung einiger Moleküle schwierig und teuer ist, werden diese derzeit nur in der klinischen Forschung bestimmt [41].

Inflammatorische Zytokine, die zur Initiation, Progression und Destabilisation artherosklerotischer Plaques beitragen und gemessen werden können, sind E-Selektin, vaskuläres Zelladhäsionsmolekül 1 und interzelluläres Adhäsionsmolekül 1 [41].

Endothelaktivierung hat auch prokoagulatorische Auswirkungen. Diese Auswirkungen können auf ein verschobenes Gleichgewicht zwischen PAI-1 und Gewebs-Plasminogen-Aktivator-I zurückgeführt werden. Des Weiteren kann auch der Von-Willebrand-Faktor infolge der Endothelaktivierung freigesetzt werden [41].

Endothelschäden und deren Reparaturen können ebenfalls bestimmt werden [41]. Hierbei werden die reifen losgelösten Endothelzellen und davon stammende Mikropartikel im Blut als Zeichen des Endothelschadens gemessen. Die Reparatur der Schäden kann durch Anzahl und Funktion zirkulierender Endothelvorläuferzellen gemessen werden [41].

Zirkulierende Endothelzellen können durch die Messung von löslichen CD146-Glykoproteinen nachgewiesen werden [5]. Im Blut gesunder Individuen findet man nur wenige zirkulierende Endothelzellen. Diese weisen das CD146-Glykoprotein auf. In Individuen mit kardiovaskulären und entzündlichen Erkrankungen kann durch die Endothelschädigung vermehrt CD146 in der peripheren Zirkulation gefunden werden [5].

Zwar gibt es keine standardisierten Methoden im Blut zirkulierende Endothelzellen festzustellen, doch wird die Messung von löslichen CD146 am häufigsten zur Detektion von zirkulierenden Endothelzellen verwendet. CD146 wird auch als S-Endo 1-assoziiertes Antigen, MelCAM oder MUC bezeichnet und ist wahrscheinlich ein Adhäsionsmolekül, da es an den interzellulären Zellgrenzen lokalisiert ist [5]. Dogansen et al. evaluierten den Zusammenhang von Endotheldysfunktion und Atherosklerose, basierend auf löslichen CD146 Spiegeln und CIMT [5]. Deren Ergebnisse lassen auf eine höhere Sensitivität auf erhöhtes Atheroskleroserisiko von löslichem CD146 als CIMT bezüglich (bzgl.) schließen [5].

1.5.5 Neutrophile-zu-Lymphozyten-Ratio

1.5.5.1 Neutrophile Granulozyten

Neutrophile Granulozyten sind die meisten Leukozyten im Kreislaufsystem [42]. Sie halten sich weniger als einen Tag im Blut auf und wandern dann ins interstitielle

Gewebe aus, wo sie eine Lebensdauer von ein bis zwei Tagen haben. Neutrophile Granulozyten stellen den Großteil der natürlichen Abwehr dar. Des Weiteren bilden sie die vorderste Front gegen pathogene Bakterien, da sie prompt und in hoher Zahl zur Verfügung stehen [12]. Die Elimination pathogener Bakterien erfolgt durch Stoffe, die in den Granula gespeichert sind. Diese werden entweder durch Phagozytose aufgenommen und intrazellulär oder, nach Exozytose der Granula, extrazellulär eliminiert. Verschiedenste Reize, wie Zytokine aus Makrophagen und Bakterienbestandteile, aktivieren Neutrophile Granulozyten [12]. Innerhalb von Minuten verlassen die ersten neutrophilen Granulozyten die Blutbahn. Im interstitiellen Gewebe bewegen sich diese Zellen, gesteuert durch Chemokine, zum Ort des Pathogens und versammeln sich dort in einem Zeitraum von Stunden in hoher Zahl [12].

1.5.5.2 Die Rolle der neutrophilen Granulozyten in der Atherogenese

Atherogenese und Wachstum von Plaques werden durch chronische inflammatorische Prozesse angetrieben. Ausgelöst wird dies durch das angeborene und erworbene Immunsystem [6]. Durch die Aktivierung der Endothelzellen kommt es zur Freisetzung von Zytokinen und der Expression von Leukozyten-Adhäsionsmolekülen. Dadurch wiederum werden Leukozyten angezogen, welche in die Wände der Arterien einwandern. In den letzten Jahrzehnten haben neutrophile Granulozyten zunehmend an Bedeutung in chronisch entzündlichen Prozessen, wie Atherosklerose, gewonnen. Den neutrophilen Granulozyten wird eine Schlüsselrolle zugeschrieben, in der sie entweder die Atherogenese direkt beeinflussen oder Immunzellen, insbesondere Monozyten, dazu bewegen, in atherosklerotische Plaques einzuwandern [6].

Es wird vermutet, dass in der frühen Phase atherosklerotischer Veränderung ein Zusammenhang zwischen neutrophilen Granulozyten und Makrophagen besteht [38]. Die Neutrophilen lösen die Rekrutierung von Monozyten in der frühen atherosklerotischen Veränderung aus und regen diese zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und Expression von Phagozytose-Rezeptoren an. Dieser Effekt könnte auch zur Destabilisation von atherosklerotischen Läsionen beitragen [38]. Zusätzlich kamen Ionita et al. zu dem Schluss, dass die Ruptur atherosklerotischer Plaques mit einer hohen Anzahl an Neutrophilen einhergehen kann [7]. Es ist jedoch noch nicht im Detail bekannt, welchen

Einfluss neutrophile Granulozyten beim Menschen auf Progression, Atherogenese und Destabilisation atherosklerotischer Plaques haben [6].

1.5.5.3 Lymphozyten

Lymphozyten lassen sich in drei Gruppen einteilen, die sich zahlenmäßig variieren. So können T-, B-Lymphozyten und natürliche Killerzellen (NK-Zellen) unterschieden werden [12].

B- und T-Lymphozyten sind Teil der adaptiven Immunabwehr [12]. Im Gegensatz dazu werden die natürlichen Killerzellen zum angeborenen Immunsystem gezählt. Während sich nur ca. 2% der Lymphozyten für einen sehr kurzen Zeitraum im Blut befinden, sammelt sich der Großteil in den lymphatischen Organen oder im Interstitium. Sie rezirkulieren ununterbrochen aus dem Blut in die lymphatischen Organe und werden danach über die Lymphe wieder zurück ins Blut transportiert [12].

T-Lymphozyten stellen ca. 75% der im Blut befindlichen Lymphozyten dar. Man unterscheidet T-Helfer-Zellen (Th), zytotoxische T-Zellen (CTLs) und regulatorische T-Zellen (Tregs). Erstere setzen Zytokine frei, welche die adaptive und angeborene Immunabwehr beeinflussen. Zweitere töten Zellen ab, an deren Oberfläche sich Antigene befinden, welche die jeweiligen Zellen als Virus-befallen ausweist [12]. Außerdem befindet sich an der Oberfläche der Th das CD4-Molekül, weshalb sie auch als CD4+-T-Zellen bezeichnet werden. Im Gegensatz dazu findet sich an der Oberfläche der zytotoxischen Lymphozyten das CD8-Molekül. Daher werden sie auch CD8+-T-Zellen genannt. Die Tregs können die Aktivität anderer Zellen des Immunsystems unterdrücken [12] und spielen ebenfalls in der Entstehung von T1D eine große Rolle [43–45].

B-Lymphozyten stellen ca. 15% der im Blut befindlichen Lymphozyten dar und sind Vertreter der humoralen Immunabwehr. Sie produzieren Antikörper in Form von Immunglobulinen [12]. Diese Antikörper sind in der Lage, Antigene zu binden. Dadurch können Antigene entweder direkt durch die Bindung oder durch nachfolgende Prozesse, wie etwa Komplementaktivierung oder Opsonisierung und anschließender Phagozytose, inaktiviert werden [12]. Die zwei Hauptfamilien unter den B-Lymphozyten sind die B1- und die B2-Familie [46].

NK-Zellen werden ferner zum angeborenen Immunsystem gezählt. Entartete und Virusinfizierte Zellen werden von diesen identifiziert und mittels der von ihnen sezernierten Stoffe oder Aktivierung von Todesrezeptoren zur Apoptose gebracht [12].

1.5.5.4 Die Rolle der Lymphozyten in der Atherogenese

Bis 1986 wurde angenommen, dass Zellen des Immunsystems nur eine kleine Rolle in der Entstehung von atherosklerotischen Plaques spielen [46]. 1986 fand man Lymphozyten in solchen Plaques. Erst Jahre später wurde weitgehend akzeptiert, dass Zellen des Immunsystems eine große Rolle in der Atherogenese spielen [46].

So wurde gezeigt, dass CD4⁺-T-Zellen Atherosklerose beschleunigen können [46]. Im Zusammenhang mit Atherosklerose wurden besonders Th1, Th2 und Th17 untersucht. Th1 produzieren Interferon- γ , das proatherogen wirkt und in atherosklerotischen Läsionen reichlich vorhanden ist [46]. Im Gegensatz dazu wurden in diesen Plaques nur wenige Th2 gefunden. Deren Rolle in der Atherogenese ist noch unklar. Auch die Funktion von Th17 bleibt unklar, da je nach Studie deren Zytokine einerseits eine proinflammatorische und andererseits eine antiinflammatorische Funktion zugeschrieben wird [46]. Tregs haben hingegen eine antiatherogene Wirkung [8].

CD8⁺-T-Zellen sind in diesem Zusammenhang noch weniger erforscht. Aktuelle Studienergebnisse ergaben sowohl eine proatherogene Wirkung, als auch eine atheroprotektive Wirkung einer bestimmten Untergruppe [46].

Auch die Aktivierung von B-Lymphozyten steht mit Atherosklerose in Zusammenhang [8]. Hierbei gibt es gegensätzliche Ergebnisse: Lymphozyten der B1-Familie wirken durch Sekretion von IgM-Immunglobulinen atheroprotektiv [8]. Über Lymphozyten der B2-Familie wird gegensätzlich berichtet: So gibt es einerseits Ergebnisse, die auf eine proatherogene Wirkung, andererseits Ergebnisse, welche auf eine antiatherogene Wirkung hindeuten [46].

Aktuelle Ergebnisse zeigen außerdem, dass eine niedrige Lymphozytenzahl mit ungünstiger Prognose von PatientInnen mit Herzversagen, chronisch ischämischer Herzerkrankung oder akutem Koronarsyndrom assoziiert ist [47].

1.5.5.5 Die NLR als atherogener Marker

Hohe Neutrophilen-Werte und niedrige Lymphozyten Werte stellen ein erhöhtes Risiko für Atherosklerose dar [6, 42, 47]. Daher geht eine erhöhte NLR mit ungünstigeren kardiometabolischen Profilen einher [42]. Die Verwendung der NLR als Marker für Atherosklerose wurde bisher in einigen Studien an Nichtdiabetikern bzw. nicht explizit an Diabetikern untersucht [9, 42, 48, 49]. Die NLR stellt einen Marker für asymptomatische Entzündungen dar [49]. Da Atherosklerose auf chronisch entzündliche Prozesse zurückzuführen ist und neutrophile Granulozyten und Lymphozyten eine wesentliche Rolle in der Pathogenese spielen, könnte sich diese als Marker für Gefäßveränderungen eignen [6, 8, 9, 42]. Die NLR vereint somit die Aussagekraft einer erhöhten Zahl neutrophiler Granulozyten und einer verminderten Zahl an Lymphozyten [48]. Während neutrophile Granulozyten für akute Entzündungen verantwortlich sind, repräsentieren Lymphozyten Stress und Ernährungsweise [48]. Zudem sind niedrige Lymphozytenzahlen mit erhöhter Entzündungsaktivität assoziiert [48]. Kürzlich durchgeführte Metaanalysen haben außerdem gezeigt, dass die NLR im Fall von Koronarsyndrom, Herzversagen und nach koronaren Revaskularisationsmaßnahmen das Auftreten von ungünstigen kardiovaskulären Ereignissen verlässlich vorhersagen konnte [48]. Des Weiteren kann die NLR als Ratio von neutrophilen Granulozyten zu Lymphozyten aus dem peripheren Blut berechnet werden [9, 42, 48].

Prats-Puig et al. führten eine Studie an gesunden Kindern durch, in der sie die NLR und Ihren Zusammenhang mit vaskulären Parameter untersuchten [42]. In dieser Studie erhärtete sich der Verdacht, dass eine höhere NLR in Zusammenhang mit schlechteren kardiovaskulären Profilen und höherem BMI ab der späten Kindheit steht [42].

Da es Hinweise gibt, dass die NLR einen sensiblen Marker für die Früherkennung von Atherosklerose [9, 42, 49] darstellt und T1D ein Risikofaktor für Atherosklerose ist [25], stellte sich die Frage, ob die NLR als früher Marker für Atherosklerose auch auf Kinder und Jugendliche mit T1D anwendbar ist.

2 Methoden

2.1 Hypothesen

Die Hypothesen dieser Arbeit können Tabelle 2.1 entnommen werden.

H0-Hypothese:	Es gibt keinen Unterschied zwischen der NLR von T1D-PatientInnen und einer gesunden Kontrollgruppe.
H1-Hypothese:	Es gibt einen Unterschied zwischen der NLR von T1D-PatientInnen und einer gesunden Kontrollgruppe.
Sekundärhypothesen:	Die NLR ist in Abhängigkeit von Diabetesdauer, BMI und Stoffwechselkontrolle (HDL, LDL, Triglyceride, HbA1c, Blutdruck) erhöht.

Tabelle 2.1: Hypothesen

2.2 PatientInnen

Es wurden die Daten jener T1D-PatientInnen analysiert, bei denen im Jahr 2011 eine Jahresuntersuchung auf diabetische Folgeerkrankungen oder Blutbilder im Rahmen stationärer Aufenthalte vorlagen. Waren im Jahr 2011 keine Daten vorhanden, im Jahr 2010 oder 2012 jedoch schon, wurden diese alternativ zur Evaluation der Daten herangezogen. Unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien (Kapitel 2.3) sowie

der Matchkriterien (Kapitel 2.5) ergab sich für die Versuchsgruppe eine Fallzahl von 121 PatientInnen, welche für die statistische Auswertung herangezogen wurden.

Für die Kontrollgruppe wurden gesunde, infektfreie (CRP unter 10 mg/L) Kinder und Jugendliche rekrutiert, welche in den Jahren 2010 bis 2012 für einen geplanten operativen Eingriff an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendchirurgie Graz stationär aufgenommen wurden. Da nicht bei allen diesen PatientInnen die erforderlichen Parameter vorlagen, wurde in einem zweiten Rekrutierungsverfahren die Kontrollgruppe erweitert. Hierbei wurden infektfreie (CRP unter 10 mg/L) Kinder und Jugendliche, die 2010 bis 2012 an der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendheilkunde Graz stationär aufgenommen wurden und folgende ICD-codierte Diagnosen aufwiesen, welche auf eine infektfreie Grunderkrankung schließen lassen, herangezogen:

- Migräne: G43.0, G43.1, G43.2, G43.3, G43.8, G44.0, G44.8
- Kollaps: R55, F45.3
- Zervikalsyndrom: M53.0, M54.12, R42, N 94.3, M47.22
- Kopfschmerz/Cephalaea: R51, G44.2, G44.1
- Schwindel: R42
- Hyperventilation: R06.4
- Thorakodynie: R07.3, M54.14

Nach Matching, Anwenden der Ausschlusskriterien und dem zweiten Rekrutierungsverfahren ergab sich auch für die Kontrollgruppe eine Fallzahl von 121 PatientInnen.

2.3 Ein- und Ausschlusskriterien

Die Ein- und Ausschlusskriterien sind in Tabelle 2.2 dargestellt.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
T1D	Laborchemisch akute Entzündungszeichen (CRP über 10 mg/L)
0 bis 19 Jahre	über 19 Jahre
	Diabetische Spätkomplikationen

Tabelle 2.2: Ein- und Ausschlusskriterien

2.4 Studiendesign

Es handelte sich um eine retrospektive, monozentrische Studie. Die Blutbilder von T1D-PatientInnen wurden mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen.

2.5 Matching

Um T1D-PatientInnen und Kontrollgruppe vergleichbar zu machen, wurde nach folgenden Kriterien vom Institut für medizinische Informatik, Statistik und medizinische Dokumentation gematcht:

- Alter (auf 6 Monate genau)
- Geschlecht

2.6 Datensammlung

Die Daten der T1D-PatientInnen wurden aus den Krankenakten der Endokrinologie-Ambulanz der Abteilung für Allgemeinpädiatrie am Universitätsklinikum Graz erhoben. Hierbei wurden folgende Parameter berücksichtigt: Geburtsdatum, Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht, Neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, HbA_{1c}, Blutzucker, Triglyceride, Parameter des Fettstoffwechsels (HDL, LDL, Triglyceride, Gesamtcholesterin), CRP, Blutdruck und Diabetesdauer.

Für die Kontrollgruppe wurden die Daten aus openMedocs® und Krankenakten erhoben. Hierbei wurden folgende Parameter erhoben: Neutrophile Granulozyten, Lymphozyten, Geburtsdatum, Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht und CRP. Im zweiten Rekrutierungsverfahren wurden infektfreie (CRP unter 10 mg/dL) Kinder und Jugendliche, welche die für die Kontrollgruppe erforderlichen ICD-Diagnosen aufwiesen, durch das Institut für medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation erhoben. Diese wurden durch Informationen (Körpergröße, Gewicht) aus Krankenakten ergänzt.

2.7 Anonymisierung und Datenschutz

Die PatientInnendaten wurden anonymisiert, indem jedem Datensatz eine fortlaufende Identifikationsnummer zugewiesen wurde. Für die weitere Verarbeitung der Daten wurden nur die anonymisierten Datensätze herangezogen.

2.8 Statistische Auswertung

Die Durchführung statistischer Tests sowie die Überprüfung der Sekundärhypothesen mittels Korrelationen und Regressionen erfolgte durch das Institut für medizinische Informatik, Statistik und Dokumentation. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant angenommen. Für die statistische Auswertung wurde SPSS® Version 22 verwendet.

Die Berechnung der deskriptiven Statistik und die Erstellung von Diagrammen und Grafiken erfolgte mit Microsoft® Excel 2011.

2.9 Ethikkommission

Da die Studie auf Basis von PatientInnendaten durchgeführt wurde, war eine Zustimmung der Ethikkommission erforderlich. Von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz wurde ein positives Votum (27-383 ex 14/15) erteilt.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik

3.1.1 Geschlechter- und Altersverteilung

Insgesamt konnten sowohl bei T1D-PatientInnen als auch in der Kontrollgruppe 121 PatientInnen eingeschlossen werden. In beiden Gruppen befanden sich 60 weibliche Patientinnen und 61 männliche Patienten (Abbildung 3.1 und Abbildung 3.2).

Bei den *T1D-PatientInnen* betrug der Mittelwert des Alters 12,06 Jahre \pm 3,92 Standardabweichung (SD). Der Median lag bei 12,91 Jahren. Das Alter der *T1D-PatientInnen* lag zwischen 2,66 und 18,34 Jahren (Abbildung 3.3).

In der *Kontrollgruppe* lag der Mittelwert des Alters bei 12,12 Jahren \pm 3,97 SD. Der Median befand sich bei 12,94 Jahren. Das Alter betrug zwischen 3,04 und 18,32 Jahren (Abbildung 3.4).

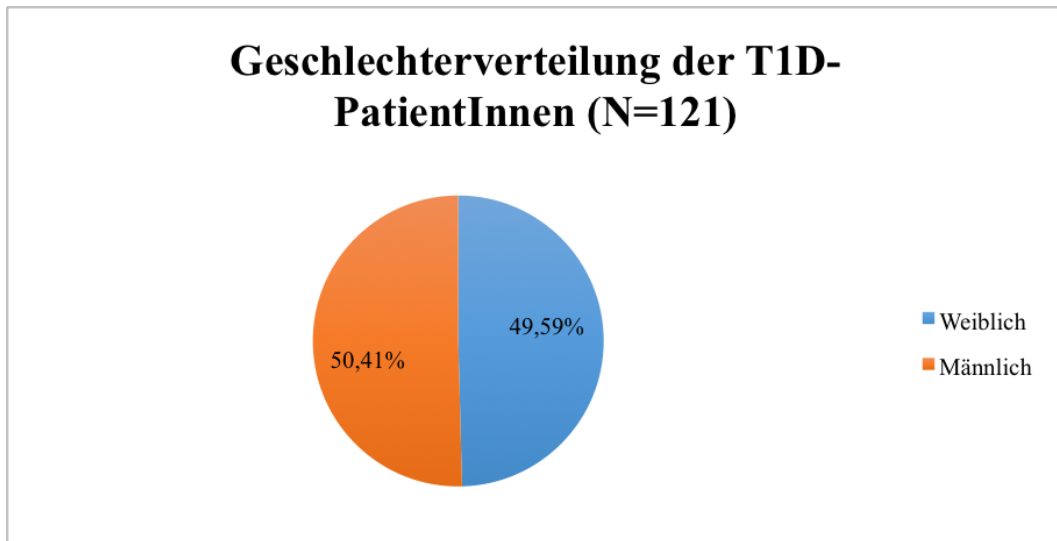


Abbildung 3.1: Geschlechterverteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

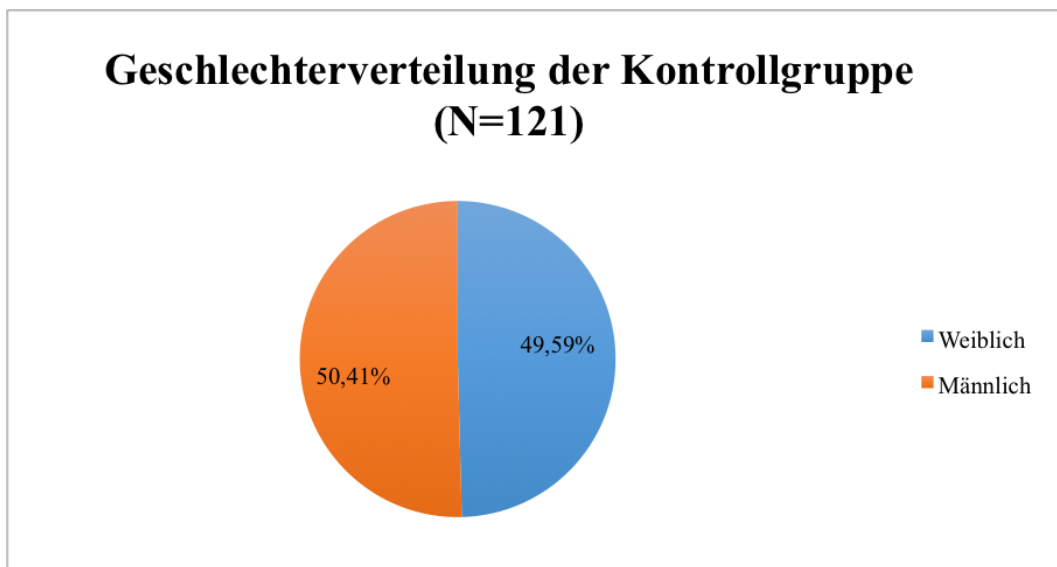


Abbildung 3.2: Geschlechterverteilung der Kontrollgruppe (N=121)

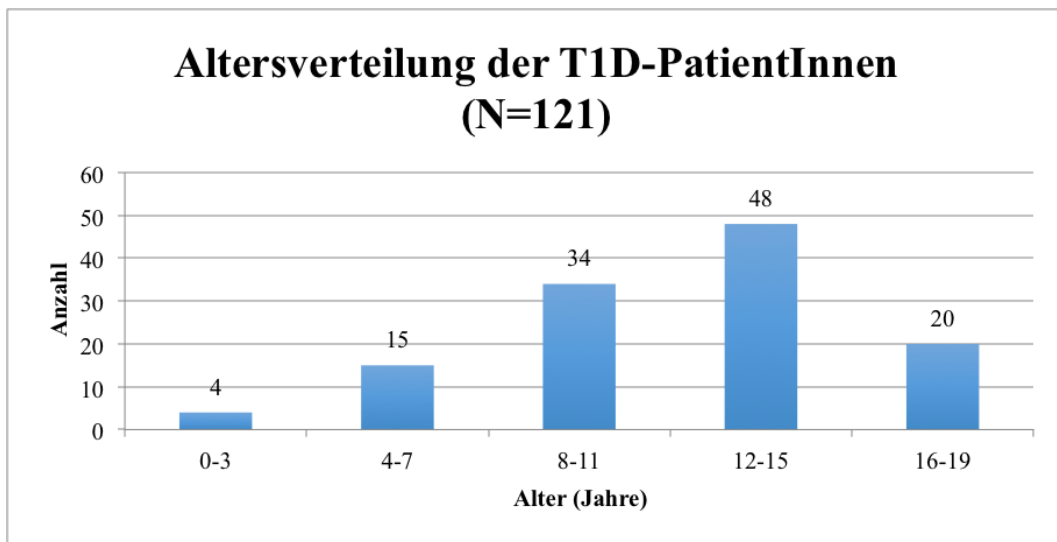


Abbildung 3.3: Altersverteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

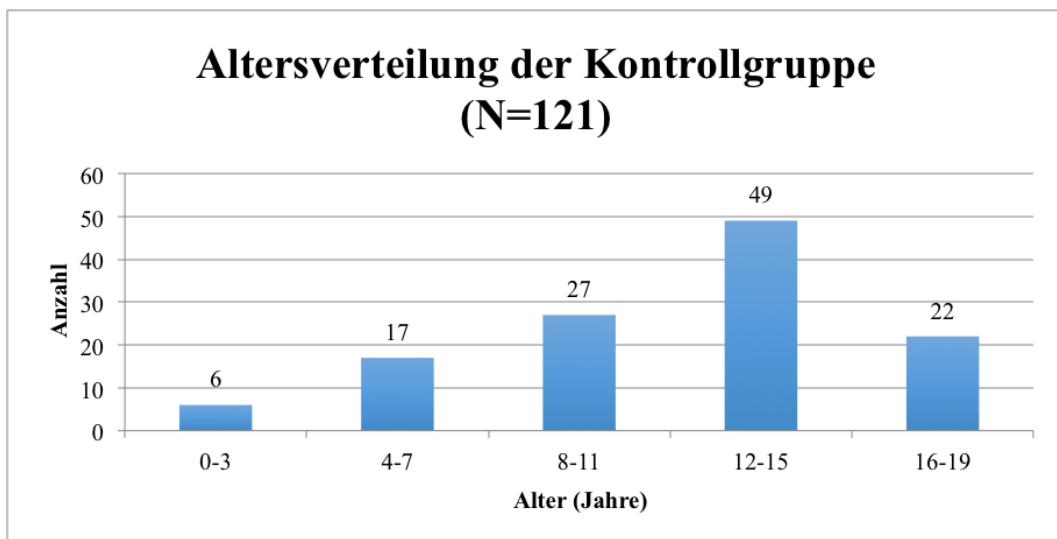


Abbildung 3.4: Altersverteilung der Kontrollgruppe (N=121)

3.1.2 Biometrische Daten

3.1.2.1 Körpergröße

Bei den *T1D-PatientInnen* betrug der Mittelwert 151 cm \pm 21 SD. Die Größe lag zwischen 95 cm und 195 m. Der Median befand sich bei 160 cm. Bei 120 von 121 PatientInnen waren Daten vorhanden.

In der *Kontrollgruppe* waren die Daten von 118 der 121 PatientInnen vorhanden. Im Mittel lag die Größe bei 149 cm \pm 21 SD. Die Größe lag zwischen 98 und 191 cm. Der Median lag bei 155 cm.

3.1.2.2 Körpergewicht

Im Mittel betrug das Körpergewicht der *T1D-PatientInnen* 46,3 kg \pm 18,1 SD. Das Körpergewicht lag zwischen 14,8 und 103,3 kg, der Median bei 48,0 kg. Die Daten waren bei 121 von 121 PatientInnen vorhanden.

In der *Kontrollgruppe* betrug der Mittelwert 44,92 kg \pm 16,06 SD. Die Werte lagen zwischen 15,00 und 86,00 kg. Der Median betrug 46,30 kg. In dieser Gruppe waren die Daten bei 121 von 121 PatientInnen vorhanden.

3.1.2.3 BMI

Der Mittelwert der *T1D-PatientInnen* bezüglich BMI lag bei 19,06 kg/m² \pm 3,43 SD (N=120). Der BMI betrug 13,52 bis 32,75 kg/m². Der Median lag bei 18,73 kg/m².

Der BMI-Mittelwert in der *Kontrollgruppe* lag bei 19,28 kg/m² \pm 3,61 SD (N=118). Der Median befand sich bei 19,11 kg/m². In der *Kontrollgruppe* reichte der BMI von 12,40 bis 33,64 kg/m²

3.1.3 Neutrophile Granulozyten und Lymphozyten

Bei den *T1D-PatientInnen* lag der Mittelwert und die SD der neutrophilen Granulozyten bei $3,17 \text{ G/L} \pm 1,19 \text{ SD}$ bzw. $53 \% \pm 10,76 \text{ SD}$ (N=121) (Tabelle 3.1).

Der Mittelwert der Lymphozyten der *T1D-PatientInnen* betrug $2,05 \text{ G/L} \pm 0,66 \text{ SD}$ bzw. $35,69 \% \pm 9,18 \text{ SD}$ (N=121) (Tabelle 3.1).

In der *Kontrollgruppe* wiesen die neutrophilen Granulozyten einen Mittelwert von $4,96 \text{ G/L} \pm 2,62 \text{ SD}$ bzw. $60 \% \pm 12,21 \text{ SD}$ (N=121) (Tabelle 3.1) auf.

Die Lymphozyten der *Kontrollgruppe* lagen im Mittelwert bei $2,33 \text{ G/L} \pm 0,95 \text{ SD}$ bzw. $30 \% \pm 10,37 \text{ SD}$ (N=121) (Tabelle 3.1).

<i>Neutrophile Granulozyten in G/L</i>		
	T1D-PatientInnen	Kontrollgruppe
Mittelwert	3,17	4,92
Median	3,00	4,20
Standardabweichung	1,19	2,62
Minimum	1,10	1,90
Maximum	7,70	18,50
<i>Lymphozyten in G/L</i>		
	T1D-PatientInnen	Kontrollgruppe
Mittelwert	2,05	2,33
Median	2,00	2,20
Standardabweichung	0,66	0,95
Minimum	0,10	0,60
Maximum	4,80	5,40
<i>Neutrophile Granulozyten in %</i>		
	T1D-PatientInnen	Kontrollgruppe
Mittelwert	53	60
Median	53	59
Standardabweichung	10,76	12,21
Minimum	27	35
Maximum	88	88
<i>Lymphozyten in %</i>		
	T1D-PatientInnen	Kontrollgruppe
Mittelwert	36	30
Median	36	30
Standardabweichung	9,18	10,37
Minimum	7	6
Maximum	61	55

Tabelle 3.1: Neutrophile Granulozyten und Lymphozyten der T1D-PatientInnen und der Kontrollgruppe

^A G... Giga

3.1.4 NLR

Die Berechnung der NLR erfolgte folgendermaßen (Gleichung 3.1):

$$\text{NLR} = \frac{\text{neutrophile Granulozyten}}{\text{Lymphozyten}} \quad (3.1)$$

Die NLR ergab bei den **T1D-PatientInnen**, bezogen auf die Absolutwerte, einen Mittelwert von $1,96 \pm 2,80$ SD. Der Wertebereich lag zwischen 0,48 und 29,00. Der Median befand sich bei 1,50 (N=121) (Tabelle 3.2 und Abbildung 3.5). Die Einteilung der NLR erfolgte nach Shah et al. [9].

Zusätzlich wurde die NLR aus den **relativen Werten** berechnet. Diese ergaben bei den **T1D-PatientInnen** einen Mittelwert von $1,74 \pm 1,29$ SD und reichten von 0,50 bis 12,57. Der Median betrug 1,50 (N=121) (Tabelle 3.2).

In der **Kontrollgruppe** ergab die NLR, berechnet aus den **Absolutwerten**, einen Mittelwert und eine SD von $2,53 \pm 1,93$. Die Werte reichten von 0,63 bis 13,38. Der Median lag bei 1,94 (N=121) (Tabelle 3.2 und Abbildung 3.6). Die Einteilung der NLR erfolgte wiederum nach Shah et al. [9].

In der **Kontrollgruppe** lag der Mittelwert der NLR, die sich aus den **Relativwerten** ergab, $2,52 \pm 1,94$ SD. Die Werte reichten von 0,65 bis 14,50. Der Median lag bei 1,90 (N=121) (Tabelle 3.2).

<i>NLR (absolut)</i>		
	T1D-PatientInnen	Kontrollgruppe
Mittelwert	1,96	2,53
Median	1,50	1,94
Standardabweichung	2,80	1,93
Minimum	0,48	0,63
Maximum	29,00	13,38
<i>NLR (relativ)</i>		
	T1D-PatientInnen	Kontrollgruppe
Mittelwert	1,74	2,53
Median	1,50	1,90
Standardabweichung	1,29	1,94
Minimum	0,50	0,65
Maximum	12,57	15,50

Tabelle 3.2: NLRs beider Gruppen (N=121)

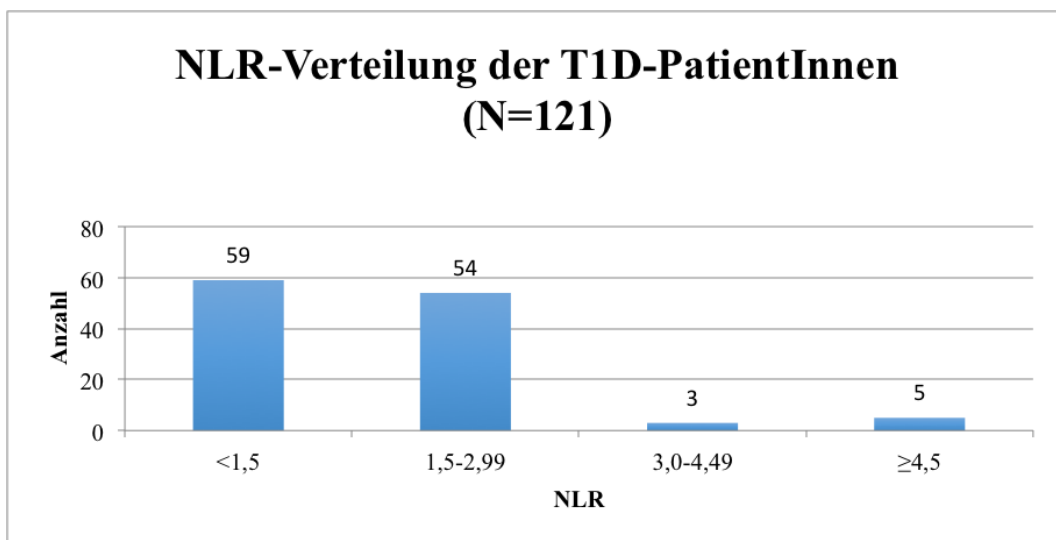


Abbildung 3.5: NLR-Verteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

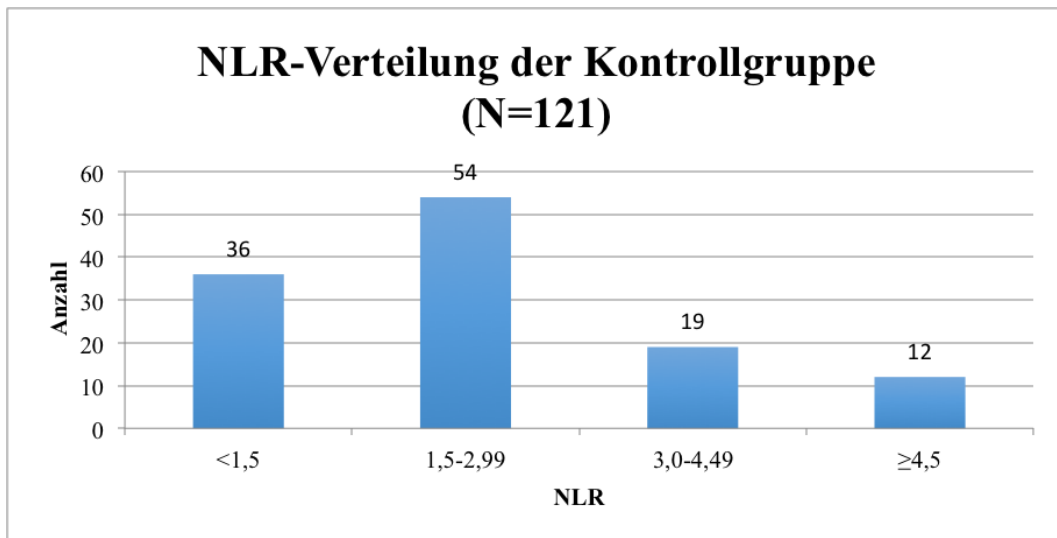


Abbildung 3.6: NLR-Verteilung der Kontrollgruppe (N=121)

3.1.5 CRP-Verteilung

Da es sich bei CRP-Werten unter 0,6 mg/dL nicht um parametrische Werte handelte, wurde lediglich die Verteilung der Werte beschrieben und auf die Berechnung von Mittelwert, SD und Median verzichtet. Die CRP-Werte bei den *T1D-PatientInnen* lagen zwischen <0,6 und 9,00 mg/L (Abbildung 3.7). Die CRP-Werte der *Kontrollgruppe* lagen zwischen <0,6 und 9,5 mg/dL (Abbildung 3.8).

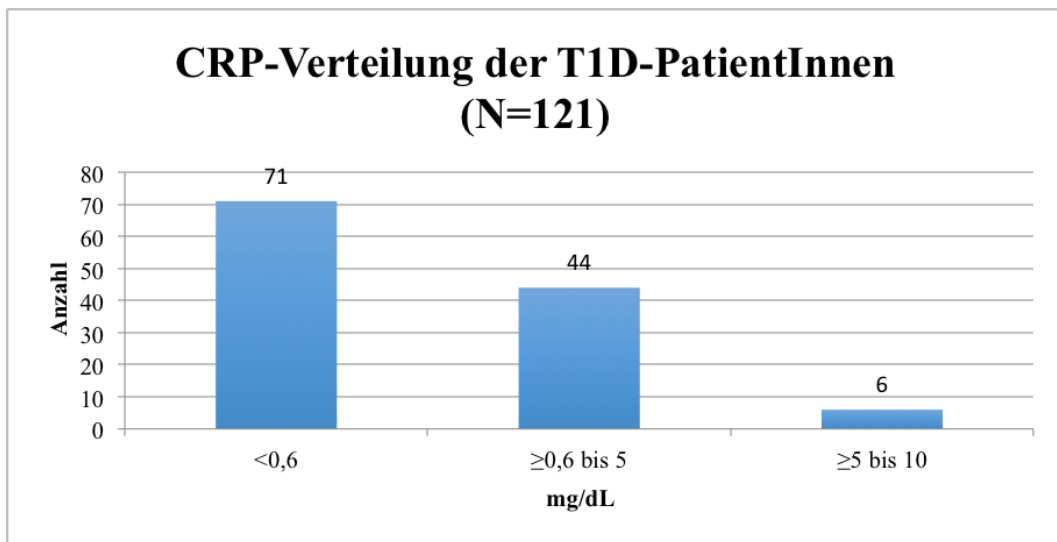


Abbildung 3.7: CRP-Verteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

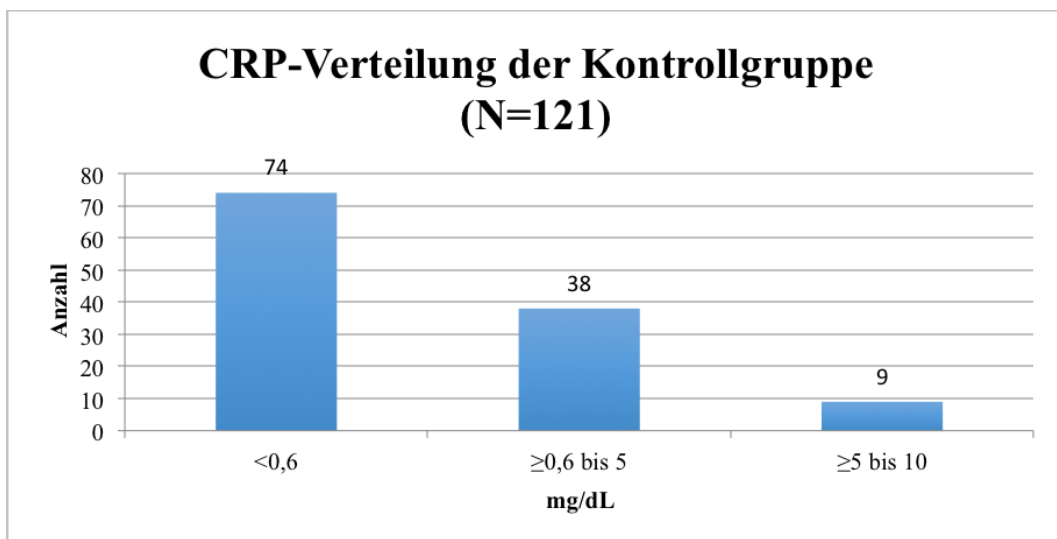


Abbildung 3.8: CRP-Verteilung der Kontrollgruppe (N=121)

3.1.6 Diabetesdauer

Die Diabetesdauer der *T1D-PatientInnen* wurde wie folgt berechnet (Gleichung 3.2):

$$\text{Diabetesdauer (Jahre)} = \frac{\text{Blutabnahmedatum} - \text{Erstmanifestationsdatum}}{365} \quad (3.2)$$

Die Diabetesdauer des T1D-PatientInnenkollektivs erstreckte sich von 0,93 Jahre bis 13,02 Jahre. Der arithmetische Mittelwert sowie die SD betragen $4,77 \text{ Jahre} \pm 3,17$. Der Median lag bei 4,07 Jahren (Abbildung 3.9).

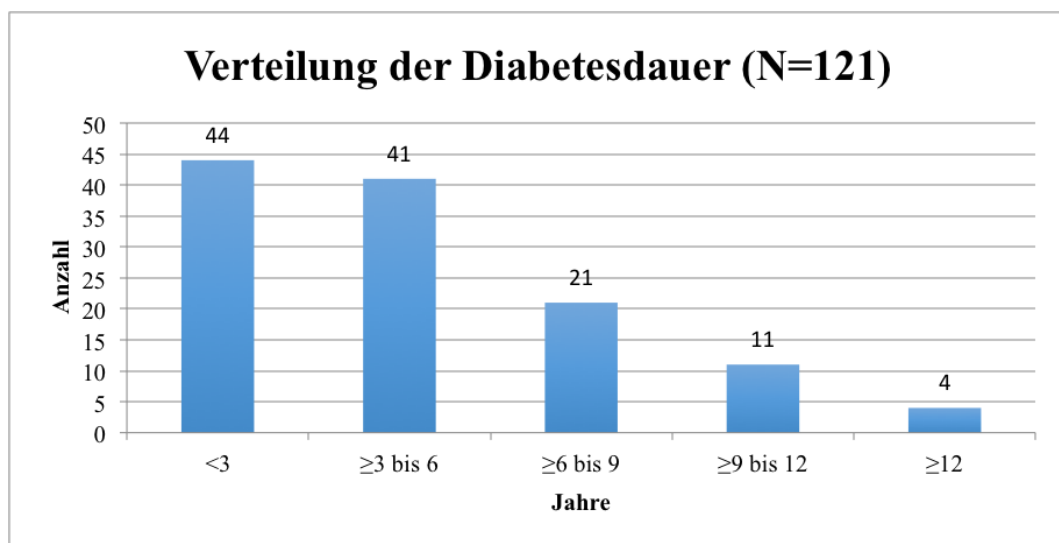


Abbildung 3.9: Verteilung der Diabetesdauer der T1D-PatientInnen (N=121)

3.1.7 Parameter des Glukosestoffwechsels

3.1.7.1 Blutglukose

Der BZ der T1D-PatientInnen am Untersuchungstag lag zwischen 40 und 500 mg/dL. Der Mittelwert betrug 221,38 mg/dL \pm 101,19 SD, der Median 209 mg/dL.

3.1.7.2 HbA_{1c}

Die HbA_{1c}-Werte der T1D-PatientInnen reichten von 40 bis 113 mmol/mol. Mittelwert und SD betragen 67 mmol/mol \pm 12,11. Der Median lag bei 64 mmol/mol (Abbildung 3.10).

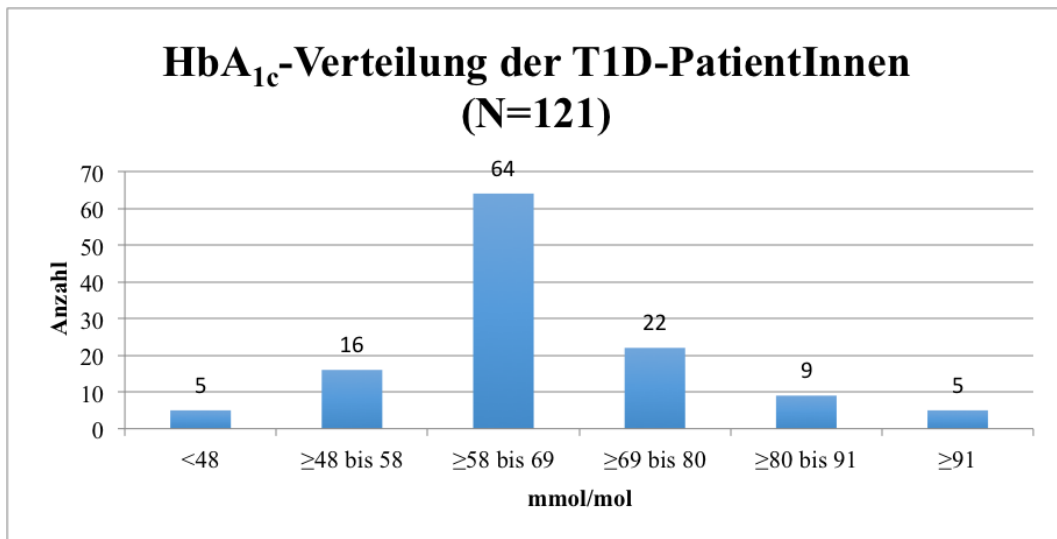


Abbildung 3.10: HbA_{1c}-Verteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

3.1.8 Lipidstoffwechsel

3.1.8.1 Gesamtcholesterin

Das Gesamtcholesterin der *T1D-PatientInnen* lag zwischen 105 und 286 mg/dL. Der Mittelwert betrug 167,47 mg/dL, die SD 30,29 mg/dL. Der Median befand sich bei 168 mg/dL (Abbildung 3.11). Die Einteilung erfolgte nach nach Herold et al. [23].

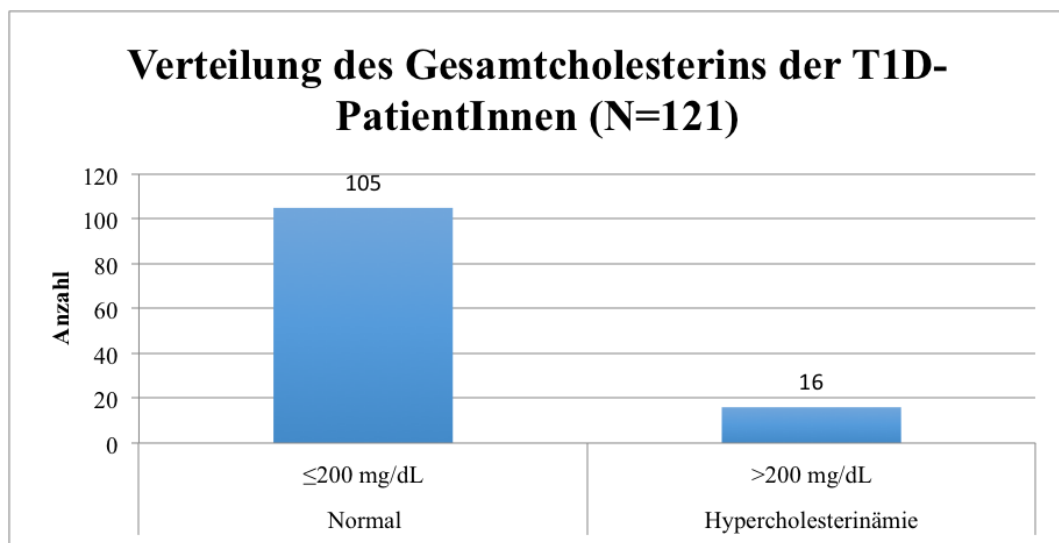


Abbildung 3.11: Gesamtcholesterin-Verteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

3.1.8.2 HDL-Cholesterin

Bei den *T1D-PatientInnen* reichte der HDL-Wert von 28 bis 113 mg/dL. Der Mittelwert betrug 66,99 mg/dL \pm 14,04 SD. Der Median befand sich bei 66 mg/dL. Die Einteilung in nachstehenden Abbildungen erfolgte nach Herold et al. [23] (Abbildung 3.12 und Abbildung 3.13).

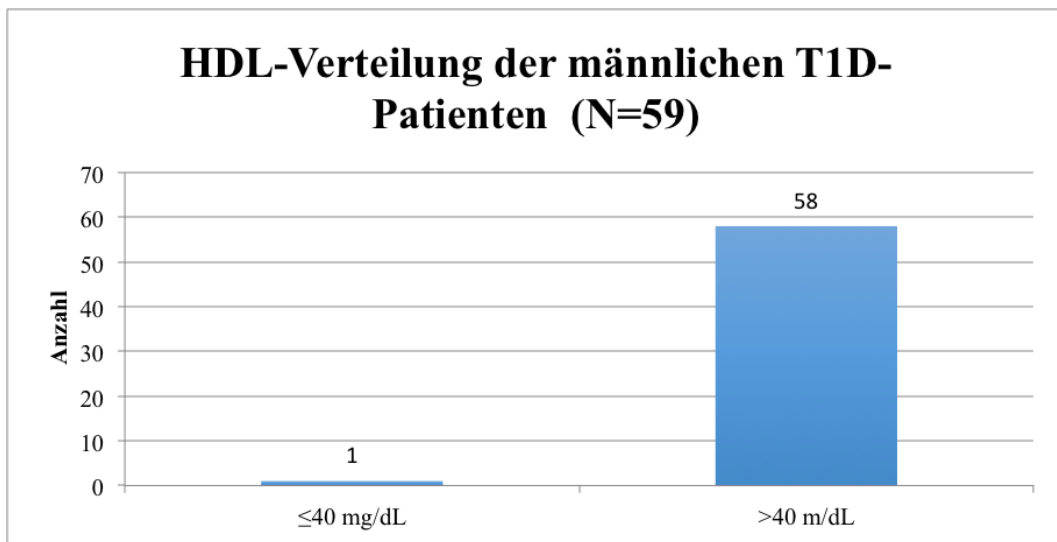


Abbildung 3.12: HDL-Cholesterin-Verteilung der männlichen T1D-Patienten (N=59)

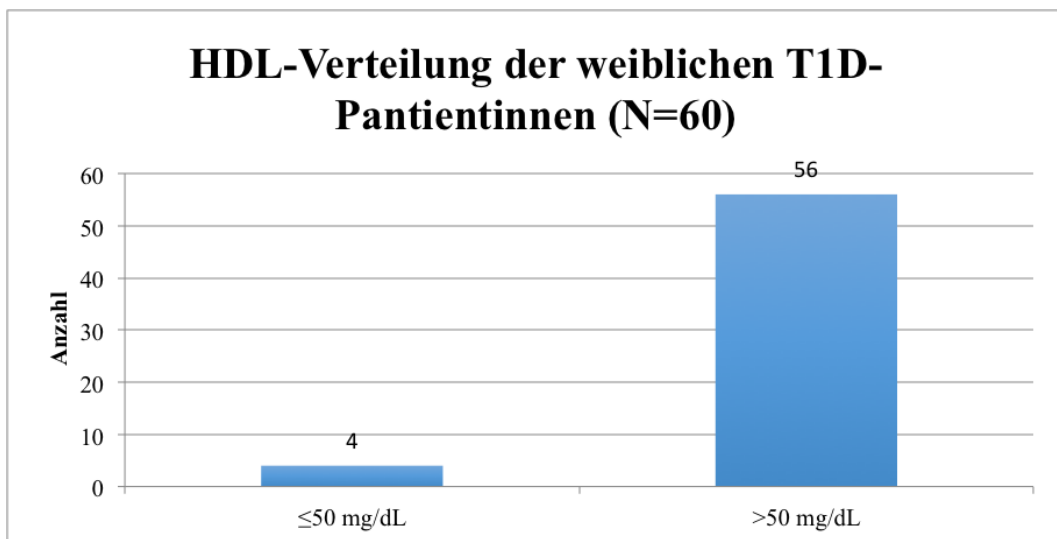


Abbildung 3.13: HDL-Cholesterin-Verteilung der weiblichen T1D-Patientinnen (N=60)

3.1.8.3 LDL-Cholesterin

Bei den *T1D-PatientInnen* betrug der Mittelwert $87,38 \text{ mg/dL} \pm 24,48 \text{ SD}$. Der LDL-Cholesterin-Wert erstreckte sich von $34,8$ bis $169,4 \text{ mg/dL}$. Der Median lag bei $84,2 \text{ mg/dL}$. Der LDL-Cholesterinwert wurde nach der Friedewald-Formel berechnet [23] (Gleichung 3.3).

$$\text{LDL} = \text{Gesamtcholesterin} - \text{HDL} - \frac{\text{Triglyceride}}{5} \quad (3.3)$$

3.1.8.4 Triglyceride

Mittelwert und SD der Triglycerid-Werte der *T1D-PatientInnen* lagen bei $67,79 \text{ mg/dL} \pm 34,67$. Der Wertebereich befand sich zwischen 23 und 218 mg/dL . Der Median lag bei 59 mg/dL (Abbildung 3.14). Die Einteilung der Werte erfolgte nach Herold et al. [23].

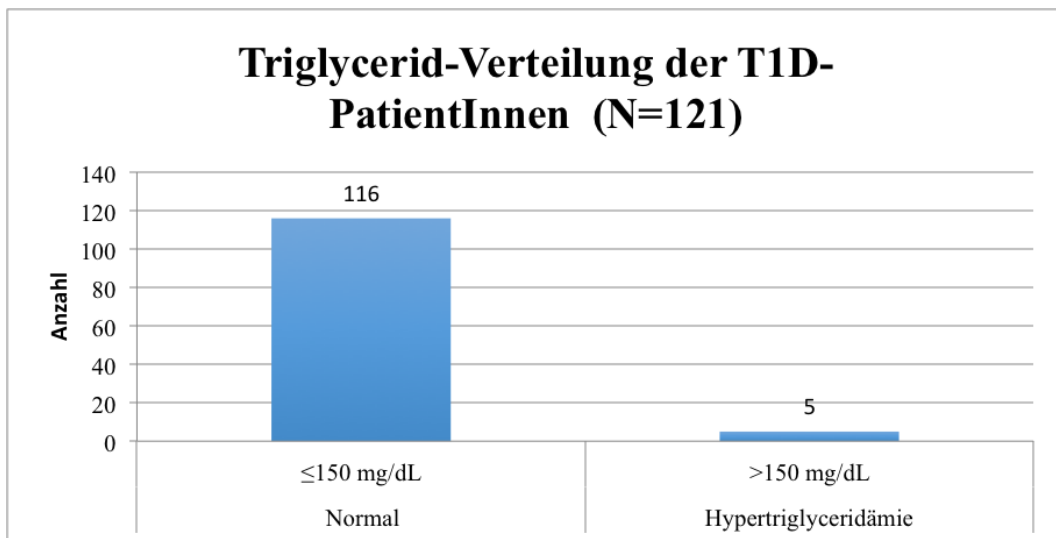


Abbildung 3.14: Triglycerid-Verteilung der T1D-PatientInnen (N=121)

3.2 Statistische Tests

Die Prüfung der nachfolgend beschriebenen Parameter (Tabelle 3.3) auf statistische Signifikanz wurde mittels Mann-Whitney-U-Test und T-Test durchgeführt. Signifikante Unterschiede ergaben sich bei Neutrophilen Granulozyten (absolut und relativ), Lymphozyten (absolut und relativ) und NLR (absolut und relativ).

Parameter	p-Wert
Neutrophile Granulozyten (G/L)	<0,001 ^A
Lymphozyten (G/L)	0,031 ^A
NLR (absolut)	<0,001 ^A
Neutrophile Granulozyten (%)	<0,001 ^B
Lymphozyten (%)	<0,001 ^B
NLR (relativ)	<0,001 ^A
Körpergewicht (kg)	0,469 ^A
Körpergröße (m)	0,209 ^A
BMI	0,728 ^A
CRP	0,903 ^A

^A Mann-Whitney-U-Test

^B T-Test

Tabelle 3.3: Statistische Auswertung der einzelnen Parameter

3.3 Korrelationen und Regressionen

Bei einigen der in Tabelle 3.4, Tabelle 3.5 und Tabelle 3.6 angeführten Parameter, konnte eine statistisch signifikante Korrelation (BMI, Diabetesdauer, HbA_{1c} und systolischer Blutdruck) bzw. Regression mit der absoluten NLR ermittelt werden:

Bei den T1D-PatientInnen korrelierte die NLR mit dem BMI ($r=0,25$ und $p=0,006$). Vergleich man die NLR mit dem BMI der T1D-PatientInnen und Kontrollgruppe zeigte sich auch hier eine Korrelation, welche aber vorwiegend durch die T1D-PatientInnen verursacht wurde ($r=0,20$ und $p=0,002$)(Tabelle 3.4). Außerdem korrelierte bei den T1D-PatientInnen die Diabetesdauer ($r=0,21$ und $p=0,24$) und der systolischer Blutdruck mit der NLR ($r=0,19$ und $p=0,44$).

Zusätzlich wurden auch Regressionen überprüft: Diese ergaben, dass bei den T1D-PatientInnen die NLR in einfacher Regression durch den BMI vorhergesagt werden kann (Tabelle 3.5 und Gleichung 3.4):

$$\text{NLR} = -0,896 + 0,150 \cdot \text{BMI} \quad (3.4)$$

Daraufhin wurde geprüft, ob eine Faktorkombination im Sinne einer multiplen Regression, die NLR vorhersagen kann. Hierfür eigneten sich die Parameter Diabetesdauer, systolischer Blutdruck und BMI ($p \leq 0,25$). Es zeigte sich, dass die Kombination verschiedener Faktoren in keiner Konstellation die NLR vorhersagen kann (Tabelle 3.6).

Korrelation der NLR mit:	Gruppe	Anzahl	r ^A	p
BMI	T1D-PatientInnen	120	0,252	0,006
	Kontrollgruppe	118	0,122	0,189
	Total	238	0,195	0,002
Diabetesdauer (Jahre)	T1D-PatientInnen	121	0,205	0,024
HbA_{1c} (mmol/mol)	T1D-PatientInnen	121	0,118	0,199
Systolischer Blutdruck	T1D-PatientInnen	119	0,185	0,044
Diastolischer Blutdruck	T1D-PatientInnen	119	0,097	0,292
HDL (mg/dL)	T1D-PatientInnen	119	0,070	0,447
LDL (mg/dL)	T1D-PatientInnen	119	0,073	0,431
Triglyceride (mg/dL)	T1D-PatientInnen	121	0,140	0,125

^A Korrelationskoeffizient: Spearman's rho

Tabelle 3.4: Korrelation verschiedener Parameter mit der NLR

Einfache Regressionsmodelle ^A	Achsenabschnitt ^B	Regr.-koeff. B ^C	Untergrenze ^D	Obergrenze ^D	P	R ^E	R-Quadrat ^E
Diabetesdauer (Jahre)	1,520	0,93	-0,067	0,253	0,252	0,105	0,011
HbA _{1c}	0,921	0,016	-0,026	0,058	0,521	0,068	0,005
Systolischer Blutdruck	-0,088	0,019	-0,013	0,050	0,247	0,079	0,006
Diastolischer Blutdruck	0,578	0,022	-0,028	0,072	0,391	0,079	0,006
BMI	-0,896	0,150	0,003	0,297	0,045	0,183	0,034
HDL (mg/dL)	2,614	-0,010	0,047	0,027	0,602	0,048	0,002
LDL (mg/dL)	1,413	0,006	-0,015	0,027	0,556	0,055	0,003
Triglyceride (mg/dL)	1,971	0,000	-0,015	0,015	0,987	0,002	0,000

^A Prädiktoren

^B Konstante

^C Regressionskoeffizient (Regr.-koeff.)

^D Konfidenzintervall=95%

^E Modelgüte

Tabelle 3.5: Regression der NLR mit verschiedenen Parametern

	Multiple Regressionen	B ^A	Standardfehler ^A	Untergrenze _B	Obergrenze ^B	p	R ^C	R-Quadrat ^C
1	(Constant)	-1,112	1,918	-4,911	2,688	0,563	0,189	0,036
	Diabetesdauer	0,036	0,088	-0,138	0,210	0,684		
	Systolischer Blutdruck	0,004	0,018	-0,031	0,040	0,816		
	BMI	0,128	0,090	-0,050	0,306	0,157		
2	(Constant)	-0,822	1,457	-3,707	2,064	0,574	0,187	0,035
	Diabetesdauer	0,037	0,088	-0,136	0,210	0,674		
	BMI	0,137	0,081	-0,023	0,297	0,093		
3	(Constant)	-0,890	1,442	-3,747	1,967	0,538	0,183	0,034
	BMI	,0150	0,074	0,002	0,297	0,047		

^A Nicht-standardisierte Koeffizienten

^B Konfidenzintervall=95%

^C Modelgüte

Tabelle 3.6: Multiple Regressionen der NLR mit geeigneten Parametern

4 Diskussion

4.1 Interpretation der Ergebnisse

Aufgrund der aktuellen Studienlage [9, 42, 48, 49] und dem Risikofaktor T1D für CVDs [25], erwarteten wir uns von dieser Studie einen Anstieg der NLR im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe.

Die statistische Auswertung ergab einen statistisch signifikanten Unterschied der absoluten NLR von T1D-PatientInnen und Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Dieser Unterschied zeigte sich jedoch nicht in einer Erhöhung der NLR bei T1D-PatientInnen, wie aufgrund der Studie an präpubertären Kindern von Prats-Puig et al. [42] und anderen Studien an Erwachsenen [9, 48, 49] vermutet, sondern in einer Verminderung der NLR bei T1D-PatientInnen.

Bei den T1D-PatientInnen lag die absolute NLR im Mittelwert und Median jeweils unter den entsprechenden Werten der Kontrollgruppe. Aufgrund der hohen SD bei den T1D-PatientInnen sollte der Median zur Interpretation herangezogen werden.

Dasselbe Verhalten zeigte sich bei der NLR, berechnet aus den Relativwerten von neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten. Auch hier lagen Median und Mittelwert der T1D-PatientInnen unterhalb den Werten der Kontrollgruppe. Aus diesem gleichen Verhalten könnte man schließen, dass für die Berechnung der NLR sowohl die Relativ- als auch die Absolutwerte geeignet sind.

Bei der Analyse der statistischen Auswertung fand sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Absolutzahlen der neutrophilen Granulozyten beider Gruppen.

Die Zahlen der T1D-PatientInnen waren im Mittel und Median niedriger als in der Kontrollgruppe.

Bei den Absolutzahlen der Lymphozyten zeigte sich ebenso ein geringer aber statistisch signifikanter Unterschied, wobei in der Kontrollgruppe Mittelwert und Median, im Vergleich zu den T1D-PatientInnen, leicht erhöht waren.

Diese Ergebnisse lassen somit den Schluss zu, dass es bei Kindern mit T1D durch eine Verminderung neutrophiler Granulozyten zu einer geringeren NLR kommt.

Eine Studie von Valle et al. [50], welche an Kindern und Erwachsenen durchgeführt wurde, konnte einen Zusammenhang zwischen Krankheitsbeginn von T1D und dem Auftreten einer Neutropenie vorweisen. Diese Studie beschrieb, dass diese Neutropenie auch noch einige Jahre nach Krankheitsbeginn vorhanden sein kann. Die Neutrophilenzahlen normalisierten sich in dieser Studie schließlich nach 5 Jahren nach Krankheitsbeginn [50]. Dieser Umstand könnte Ursache der Neutropenien der T1D-PatientInnen sein, da 44 von 121 PatientInnen eine T1D-Krankheitsdauer von weniger als drei Jahren aufwiesen (Kapitel 3.1.6). Als Grund für die Verminderung Neutrophiler Granulozyten werden immunologische Ursachen diskutiert. So könnte die Reduktion neutrophiler Granulozyten den Beweis für eine chronische Virusinfektion darstellen, welche unter anderem als Auslöser der Erkrankung vermutet wird [50]. Des Weiteren scheint die persistierende Neutropenie nach Beginn der Erkrankung die kontinuierliche Zerstörung der β -Zellen widerzugeben. Somit könnte dieser Umstand die aktive Zerstörung der β -Zellen repräsentieren [50].

Da eine Korrelation des BMI mit der NLR nachweisbar war könnte ein erhöhter BMI mit einem erhöhten Atherosklerose-Risiko einhergehen. Dies ergibt sich möglicherweise aus der Tatsache, dass ein erhöhter BMI mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko einhergeht [51] und die NLR einen Marker für atherosklerotische Veränderungen darstellt [9, 42]. Diese Ergebnisse unterstützen außerdem die Erkenntnisse von Prats-Puig et al., welche ebenfalls eine Korrelation zwischen NLR und BMI in bestimmten Altersgruppen nachweisen konnten [42]. Ebenso konnte eine einfache Regression bei den T1D-PatientInnen gefunden werden: Dadurch kann der BMI die NLR vorhersagen. Dies bestätigt wiederum die von Prats-Puig et al. gewonnenen Erkenntnisse [42].

Weiters ergab sich eine Korrelation mit der Diabetesdauer bei T1D-PatientInnen. So nahm die NLR mit steigender Diabetesdauer zu.

Zusätzlich fand sich auch eine Korrelation der NLR mit dem systolischen Blutdruck bei den T1D-PatientInnen.

In dieser Arbeit ergab sich ebenso ein geringer, jedoch statistisch signifikanter, Unterschied zwischen den absoluten Lymphozytenzahlen beider Gruppen. In der Literatur wurde bereits beschrieben, dass verminderte Lymphozytenzahlen mit einem erhöhten Atheroskleroserisiko einhergehen [47]. Da unsere Ergebnisse verminderte Lymphozytenzahlen bei den T1D-PatientInnen, und somit Risikogruppe [25], zeigten, könnte dies bedeuten, dass Lymphozyten in der Pathogenese von Atherosklerose eine noch ungeahnte Rolle spielen.

4.2 Stärken und Limitationen

Es handelt sich unseres Wissens um die erste Studie, welche die NLR an Kindern und Jugendlichen mit T1D untersuchte. Eine Stärke dieser Studie ist, dass Kontrollgruppe und T1D-PatientInnen bzgl. Alter und Geschlecht gematcht wurden. Ebenso ähneln sich T1D-PatientInnen und Kontrollgruppe bei BMI und CRP-Werten, es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Das Alter des untersuchten PatientInnenkollektivs lag unter 19 Jahre. Da Kinder und Jugendliche bekanntlich weniger Komorbiditäten aufweisen als Erwachsene, kann davon ausgegangen werden, dass die Blutbilder in geringerem Ausmaß durch Medikamente beeinflusst wurden als bei Studien an Erwachsenen.

Eine Limitation ist die Feststellung der Infektfreiheit anhand des biochemischen CRP-Wertes unter 10 mg/L. CRP steigt erst einige Zeit nach Beginn einer Infektion an, beschrieben sind Latenzzeiten von 24 bis 48 Stunden [52]. Es könnte sein, dass sich entweder bei den T1D-PatientInnen oder in der Kontrollgruppe Kinder und Jugendliche befanden, die zum Zeitpunkt der Blutabnahme klinisch einen Infekt aufwiesen.

Des Weiteren könnten Fehldiagnosen in unserer Kontrollgruppe vorliegen. Somit könnten Kinder oder Jugendliche, welche an einem Infekt litten, mit einer nicht-Infekt-assoziierten Diagnose versehen worden sein.

Aufgrund der großen Menge an zu evaluierenden Daten können, trotz gewissenhafter Arbeit, Fehler im Rahmen der Datenerhebung nicht ausgeschlossen werden. So könnten bei der Übertragung der Daten in die digitale Form Fehler aufgetreten sein. Eine Verbesserung der digitalen Dokumentation wäre eine Erleichterung, da menschliche Fehler und Arbeitsaufwand minimiert würden.

Diese Studie wies, im Gegensatz zu etwaigen Vergleichsstudien [9, 42, 48], eine geringere PatientInnen-Population auf.

4.3 Conslusio

In Zusammenschau aller Ergebnisse eignet sich die NLR bei T1D-PatientInnen nicht als Marker für atherosklerotische Veränderungen bei Kindern und Jugendlichen mit T1D, da sich bei diesen, im Vergleich zur Kontrollgruppe, eine Neutropenie zeigte. Diese, vorwiegend durch die Neutropenie bedingte, Veränderung ist ein bereits in der Literatur beschriebenes Phänomen [50].

Referenzen

- [1] Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., Michels, A. W., “Type 1 diabetes”, *Lancet* **2014**, *383(9911):69-82*.
- [2] Patterson, C. C., Dahlquist, G. G., Gyürüs, E., Green, A., Soltész, G., “Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study”, *Lancet* **2009**, *373(9680):2027-2033*.
- [3] de Ferranti, S. D., Boer, I. H. de, Fonseca, V., Fox, C. S., Golden, S. H., Lavie, C. J., Magge, S. N., Marx, N., McGuire, D. K., Orchard, T. J., Zinman, B., Eckel, R. H., “Type 1 diabetes mellitus and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association and American Diabetes Association”, *Circulation* **2014**, *130(13):1110-1130*.
- [4] Truong, U. T., Maahs, D. M., Daniels, S. R., “Cardiovascular disease in children and adolescents with diabetes: where are we, and where are we going?”, *Diabetes Technology & Therapeutics* **2012**, *14(Suppl. 1):11-21*.
- [5] Dogansen, S. C., Helvaci, A., Adas, M., Onal, S. D., “The relationship between early atherosclerosis and endothelial dysfunction in type 1 diabetic patients as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and soluble CD146 levels: a cross sectional study”, *Cardiovascular Diabetology* **2013**, *12:153*.
- [6] Döring, Y., Drechsler, M., Soehnlein, O., Weber, C., “Neutrophils in Atherosclerosis: From Mice to Man”, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* **2015**, *35(2):288-295*.

- [7] Ionita, M. G., Borne, P. van den, Catanzariti, L. M., Moll, F. L., Vries, J.-P. de, Pasterkamp, G., Vink, A., de Kleijn, D. P., “High neutrophil numbers in human carotid atherosclerotic plaques are associated with characteristics of rupture-prone lesions”, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* **2010**, *30(9):1842-1848*.
- [8] Ait-Oufella, H., Sage, A. P., Mallat, Z., Tedgui, A., “Adaptive (T and B cells) immunity and control by dendritic cells in atherosclerosis”, *Circulation research* **2014**, *114(10):1640-1660*.
- [9] Shah, N., Parikh, V., Patel, N., Patel, N., Badheka, A., Deshmukh, A., Rathod, A., Lafferty, J., “Neutrophil lymphocyte ratio significantly improves the Framingham risk score in prediction of coronary heart disease mortality: Insights from the National Health and Nutrition Examination Survey-III”, *International Journal of Cardiology* **2014**, *171(3):390-397*.
- [10] Craig, M. E., Jefferies, C., Dabelea, D., Balde, N., Seth, A., Donaghue, K. C., “Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents”, *Pediatric Diabetes* **2014**, *15(Suppl. 20):4-17*.
- [11] American Diabetes Association, “Diagnosis and classification of diabetes mellitus”, *Diabetes Care* **2014**, *37(Suppl. 1):81-90*.
- [12] *Taschenlehrbuch Histologie*, 3. Auflage, (Ed.: Lüllmann-Rauch, R.), Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, **2009**.
- [13] American Diabetes Association, “Classification and Diagnosis of Diabetes. Sec. 2. In Standards of Medical Care in Diabetes-2016”, *Diabetes Care* **2016**, *39(Suppl 1):13-22*.
- [14] Rewers, M., Ludvigsson, J., “Environmental risk factors for type 1 diabetes”, *Lancet* **2016**, *387(10035):2340-2348*.
- [15] DIAMOND Project Group, “Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990-1999”, *Diabetic Medicine* **2006**, *23(8):857-866*.
- [16] Harjutsalo, V., Sjoberg, L., Tuomilehto, J., “Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study”, *Lancet* **2008**, *371(9626):1777-1782*.

- [17] Hamman, R. F., Bell, R. A., Dabelea, D., D'Agostino Jr., R. B., Dolan, L., Imperatore, G., Lawrence, J. M., Linder, B., Marcovina, S. M., Mayer-Davis, E. J., Pihoker, C., Rodriguez, B. L., Saydah, S., The SEARCH for Diabetes in Youth Study Group, "The SEARCH for Diabetes in Youth study: Rationale, Findings, and Future Directions", *Diabetes Care* **2014**, *37(12):3336-3344*.
- [18] *Diabetes bei Kindern und Jugendlichen*, 6. Auflage, (Eds.: Hürter, P., Danne, T.), Springer Medizin Verlag, Heidelberg, **2004**.
- [19] VanBuecken, D. E., Greenbaum, C. J., "Residual C-peptide in type 1 diabetes: what do we really know?", *Pediatric Diabetes* **2014**, *15(2):84-90*.
- [20] Danne, T., Bangstad, H.-J., Deeb, L., Jarosz-Chobot, P., Mungaie, L., Saboo, B., Urakami, T., Battelino, T., Hanas, R., "Insulin treatment in children and adolescents with diabetes", *Pediatric Diabetes* **2014**, *15(Suppl. 20):115-134*.
- [21] American Diabetes Association, "Approaches to Glycemic Treatment. Sec. 7. In Standards of Medical Care in Diabetes-2016", *Diabetes Care* **2016**, *39(Suppl. 1):52-59*.
- [22] Donaghue, K. C., Wadwa, R. P., Dimeglio, L. A., Wong, T. Y., Chiarelli, F., Marcovecchio, M. L., Salem, M., Raza, J., Hofman, P. L., Craig, M. E., "Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents", *Pediatric Diabetes* **2014**, *15(Suppl. 20):257-269*.
- [23] *Innere Medizin 2014*, 1., (Ed.: Herold, G.), Gerd Herold, Köln, **2014**.
- [24] Couper, J. J., Haller, M. J., Ziegler, A.-G., Knip, M., Ludvigsson, J., Craig, M. E., "Phases of type 1 diabetes in children and adolescents", *Pediatric Diabetes* **2014**, *15(Suppl. 20):18-25*.
- [25] Järvisalo, M. J., Raitakari, M., Toikka, J. O., Putto-Laurila, A., Rontu, R., Laine, S., Lehtimäki, T., Rönnemaa, T., Viikari, J., Raitakari, O. T., "Endothelial Dysfunction and Increased Arterial Intima-Media Thickness in Children With Type 1 Diabetes", *Circulation* **2004**, *109(14):1750-1755*.
- [26] Heier, M., Margeirsdottir, H. D., Brunborg, C., Hanssen, K. F., Dahl-Jørgensen, K., Seljeflot, I., "Inflammation in childhood type 1 diabetes; influence of glycemic control", *Atherosclerosis* **2015**, *238(1):33-37*.

- [27] Daneman, D., “Type 1 diabetes”, *Lancet* **2006**, *367(9513):847-858*.
- [28] American Diabetes Association, “Microvascular Complications and Foot Care. Sec. 9. In Standards of Medical Care in Diabetes-2016”, *Diabetes Care* **2016**, *39(Suppl. 1):72-80*.
- [29] Chiang, J. L., Kirkman, M. S., Laffel, L. M. B., Peters, A. L., Type 1 Diabetes Sourcebook Authors, “Type 1 diabetes through the life span: a position statement of the American Diabetes Association”, *Diabetes Care* **2014**, *37(7):2034-2054*.
- [30] Hietala, K., Harjutsalo, V., Forsblom, C., Summanen, P., Groop, P.-H., “Age at Onset and the Risk of Proliferative Retinopathy in type 1 diabetes”, *Diabetes Care* **2010**, *33(6):1315-1319*.
- [31] *Therapielexikon Endokrinologie und Stoffwechselkrankheiten*, (Ed.: Stalla, G. K.), Springer Medizin Verlag, Heidelberg, **2007**.
- [32] Lichtenauer, U. D., Seissler, J., Scherbaum, W. A., “Die diabetischen Folgeerkrankungen. Mikro- und makroangiopathische Organschäden/ Diabetic sequale - micro- and macroangiopathic organ damage”, *Internist* **2003**, *44(7):840-852*.
- [33] American Diabetes Association, “Children and Adolescents. Sec. 11. In Standards of Medical Care in Diabetes-2016”, *Diabetes Care* **2016**, *39(Suppl. 1):86-93*.
- [34] Schnell, O., Cappuccio, F., Genovese, S., Standl, E., Valensi, P., Ceriello, A., “Type 1 diabetes and cardiovascular disease”, *Cardiovascular Diabetology* **2013**, *12:156*.
- [35] Paneni, F., Beckman, J. A., Creager, M. A., Cosentino, F., “Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I”, *European Heart Journal* **2013**, *34(31):2436-2446*.
- [36] Libby, P., Ridker, P. M., Hansson, G. K., “Inflammation in Atherosclerosis: From Pathophysiology to Practice”, *Journal of the American College of Cardiology* **2009**, *54(23):2129-2138*.
- [37] *Lifestyle Medicine*, (Eds.: Mechanick, J. I., Kushner, R. F.), Springer International Publishing, Switzerland, **2016**.
- [38] Hartwig, H., Roig, C. S., Daemen, M., Lutgens, E., Soehnlein, O., “Neutrophils in atherosclerosis. A brief overview”, *Hämostaseologie* **2015**, *35(2):121-127*.

- [39] Verma, S., Buchanan, M. R., Anderson, T. J., “Endothelial Function Testing as a Biomarker of Vascular Disease”, *Circulation* **2003**, *108(17):2054-2059*.
- [40] Ridker, P. M., “Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention”, *Circulation* **2003**, *107(3):363-369*.
- [41] Deanfield, J. E., Halcox, J. P., Rabelink, T. J., “Endothelial Function and Dysfunction: Testing and Clinical Relevance”, *Circulation* **2007**, *115(10):1285-1295*.
- [42] Prats-Puig, A., Gispert-Sañch, M., Diaz-Roldán, F., Carreras-Badosa, G., Osiniri, I., Planella-Colomer, M., Mayol, L., Zegher, F. de, Ibáñez, L., Bassols, J., López-Bermejo, A., “Neutrophil-to-lymphocyte ratio: an inflammation marker related to cardiovascular risk in children”, *Thrombosis and Haemostasis* **2015**, *114(4):727-734*.
- [43] Zóka, A., Barna, G., Somogyi, A., Muzes, G., Olah, Á., Al-Aissa, Z., Hadarits, O., Kiss, K., Firneisz, G., “Extension of the CD4(+)Foxp3(+)CD25(-/low) regulatory T-cell subpopulation in type 1 diabetes mellitus”, *Autoimmunity* **2015**, *48(5):289-297*.
- [44] Manirarora, J. N., Wei, C.-H., “Combination Therapy Using IL-2/IL-2 Monoclonal Antibody Complexes, Rapamycin, and Islet Autoantigen Peptides Increases Regulatory T Cell Frequency and Protects against Spontaneous and Induced Type 1 Diabetes in Nonobese Diabetic Mice”, *Journal of Immunology* **2015**, *195(11):5203-5214*.
- [45] Gitelman, S. E., Bluestone, J. A., “Regulatory T cell therapy for type 1 diabetes: May the force be with you”, *Journal of Autoimmunity* **2016**, *71:78-87*.
- [46] Hedrick, C. C., “Lymphocytes in Atherosclerosis”, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* **2015**, *35(2):253-257*.
- [47] Nunez, J., Minana, G., Bodi, V., Nunez, E., Sanchis, J., Husser, O., Llacer, A., “Low lymphocyte count and cardiovascular diseases”, *Current Medicinal Chemistry* **2011**, *18(21):3226-3233*.

- [48] Solak, Y., Yilmaz, M. I., Sonmez, A., Saglam, M., Cakir, E., Unal, H. U., Gok, M., Caglar, K., Oguz, Y., Yenicesu, M., Karaman, M., Ay, S. A., Gaipov, A., Turk, S., Vural, A., Carrero, J. J., “Neutrophil to lymphocyte ratio independently predicts cardiovascular events in patients with chronic kidney disease”, *Clinical and Experimental Nephrology* **2013**, *17(4):532-540*.
- [49] Celikbilek, A., Ismailogullari, S., Zararsiz, G., “Neutrophil to Lymphocyte Ratio Predicts Poor Prognosis in Ischemic Cerebrovascular Disease”, *Journal of Clinical Laboratory Analysis* **2014**, *28(1):27-31*.
- [50] Valle, A., Giamporcaro, G. M., Scavini, M., Stabilini, A., Grogan, P., Bianconi, E., Sebastiani, G., Masini, M., Maugeri, N., Porretti, L., Bonfanti, R., Meschi, F., Pellegrin, M. D., Lesma, A., Rossini, S., Piemonti, L., Marchetti, P., Dotta, F., Bosi, E., Battaglia, M., “Reduction of circulating neutrophils precedes and accompanies type 1 diabetes”, *Diabetes* **2013**, *62(6):2072-2077*.
- [51] Wilson, P. W., D’Agostino, R. B., Sullivan, L., Parise, H., Kannel, W. B., “Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience”, *Archives of Internal Medicine* **2002**, *162(16):1867-1872*.
- [52] *LaborMedizin*, 3. Auflage, (Eds.: Bruhn, H. D., Junker, R., Schäfer, H., Schreiber, S.), Schattauer, Stuttgart, **2011**.