Effekte der intravenösen Nikotinsäureinfusion auf Substrat-, Metabolit- und Hormonkonzentrationen im Blut beim juvenil-manifestierten Diabetes mellitus

D. MICHAELIS, H.-J. HAHN, R. MICHAEL, S. KNOSPE, H. SCHÄFER, E. JUTZI und P. WULFERT

Institut für Diabetes "Gerhardt Katsch" — Forschung und Behandlung — Karlsburg und Garz, Bereich Klinik Karlsburg (Institutsdirektor und Leiter der Klinik: Prof. Dr. med. habil. H. Bibergeil) und Bereich experimentelle Diabetesforschung (damaliger Leiter: Doz. Dr. med. habil. H.G. Lippmann)

Eingegangen am 18. Dezember 1969

Effects of the intravenous infusion of nicotinic acid on blood concentrations of substrates, metabolites and hormones in juvenile-onset diabetes

Summary. The effect of a 30 min infusion of nicotinic acid on the blood levels of glucose, pyruvate, lactate, FFA, glycerol, catecholamines, and 11-OH-corticosteroids was investigated over 180 min in 73 insulin-dependent diabetics with different clinical states of metabolism and in 7 healthy subjects. The action of nicotinic acid on insulin secretion was measured *in vivo* in some diabetic and some healthy subjects by means of ILA. Studies on insulin secretion *in vitro* were done by measuring the insulin release from isolated islets of mouse pancreas. The insulin content of the incubation medium was estimated with the radio-immunological method. — It was shown that nicotinic acid *in vitro* stimulates insulin release from B cells significantly. *In vivo* the rise of serum ILA after nicotinic acid infusion was only detectable in healthy subjects and in diabetics of the stable type. Furthermore, a negative correlation was demonstrated between the peak of the FFA-rebound induced by nicotinic acid and the stimulatory effect of the drug on insulin secretion. The behaviour of blood glucose during infusion of nicotinic acid together with the daily insulin dosage permitted a metabolic distinction to be made between diabetics of the stable and unstable ('brittle') type.

Effets de l'infusion d'acide nicotinique par voie veineuse sur la concentration des substrats, métabolites et hormones du sang dans le diabète qui se manifeste à l'âge juvénile

Résumé. Chez 73 diabétiques traités par l'insuline qui montrent un comportement clinique différent du métabolisme, et chez 7 sujets normaux, nous avons fait une épreuve de charge en acide nicotinique par voie veineuse pendant 30 min et nous avons analysé les taux sanguins du glucose, du pyruvate, du lactate, des FFA, du glycérol, des catécholamines et de 11-OH-CS pendant une période de 180 min. En outre nous avons mesuré l'influence de

l'acide nicotinique sur l'insulino-sécrétion, *in vivo* chez quelques sujets diabétiques et normaux par la méthode radiobiologique (ILA), *in vitro* sur des îlots de Langerhans isolés de souris par la méthode radio-immunologique (IRI). *In vitro* nous avons vu une élévation significative de l'insulino-sécrétion, *in vivo* on peut montrer une élévation de l'ILA seulement chez les sujets normaux et chez les diabétiques ayant un métabolisme stable. L'élévation de "FFA-rebound" secondaire provoquée par l'infusion de l'acide nicotinique était en corrélation négative avec l'effet stimulant sur l'insulino-sécrétion. Ce comportement permet une différenciation métabolique des diabétiques de type instable et stable en tenant compte de la glycémie et de la dose quotidienne d'insuline nécessaire pour la compensation du métabolisme.

Zusammenfassung. Bei 73 insulinbedürftigen Diabetikern mit klinisch differentem Stoffwechselverhalten und 7 Gesunden wurden eine 30-minütige Nikotinsäureinfusion durchgeführt und die Blutparameter von Glucose, Pyruvat, Lactat, FFS, Glycerin, Katecholaminen und 11-OH-CS über einen Zeitraum von 180 min analysiert. Außerdem wurde die Insulinsekretion *in vivo* bei einigen diabetischen und gesunden Probanden mittels der ILA, *in vitro* an isolierten Langerhans'schen Inseln aus Mausepankrea mittels dem IRI unter Nikotinsäureeinwirkung untersucht. Es konnte demonstriert werden, daß Nikotinsäure *in vitro* zu einer signifikanten Steigerung der Insulinausschüttung führt. *In vivo* ist eine Stimulation der ILA nur bei Gesunden und stoffwechselstabilen Diabetikern nachweisbar. Das Ausmaß des sekundären Nikotinsäure-induzierten FFS-Rebound steht in negativer Relation zur Stimulierbarkeit der ILA. Es gestattet unter Einbeziehung des Blutglucoseverhaltens und des exogenen, zur Stoffwechselkompensation erforderlichen täglichen Insulinbedarfs eine metabolische Differenzierung des stoffwechsellabilen und stoffwechselstabilen Diabetestyps.

Key-words: Nicotinic acid infusion, FFA-rebound, stable and brittle diabetes, insulin secretory response.

Der juvenil-manifestierte, insulinbedürftige Diabetes mellitus wird im internationalen Schrifttum häufig mit dem "juvenile type" Diabetes gleichgesetzt, was jedoch keinesfalls berechtigt ist. Allein das differente Stoffwechselverhalten auch das insulinabhängigen Diabetes, welches im klinischen Sprachgebrauch zur Unterscheidung zwischen dem stabilen (stable) und labilen (instable, brittle) (Woodyatt 1934) Stoffwechseltyp führte, spricht gegen einen einheitlichen Diabetestyp. Diese Differenzierung bezieht sich auf das klinische Erscheinungsbild, wobei die variable Insulinsensitivi-

tät, die Ketose- und Hypoglykämieeignung mit nachfolgender Stoffwechseldekompensation (Molnar 1964) ohne erkennbare Ursachen, wie Variationen der Zusammensetzung und Absorption der Diät, Infektionen oder Alterationen der Leber sowie der Aktivität von Hypophyse, Schilddrüse und Nebennieren (Joslin et al. 1959) als Charakteristika des labilen Stoffwechseltyps gelten. Infolge Fehlens biochemischer und hormoneller Charakteristika ist diese klinische Unterteilung mit dem Mangel der Subjektivität behaftet. Dies gilt um so mehr, als die Symptomatik der Stoffwechsellabilität

durch iatrogenen Hyperinsulinismus (Somogy 1961) respektive unkontrollierte Nahrungszufuhr erzeugt werden kann.

Das absolute endogene Insulindefizit wird nach Vallance-Owen et al. (1955), Gepts (1965), Parker et al. (1968), als Kennzeichen des juvenil-manifestierten Diabetes angesehen. Jedoch spricht das differente Stoffwechselverhalten sowie das zunehmend häufigere Erscheinen „milder“ Diabetesformen in den juvenilen Altersklassen (Dolger 1961, Pildes u. Cornblath 1967, Fajans u. Conn 1965) gegen die generelle Annahme eines absoluten Insulinmangels beim juvenil-manifestierten Diabetes mellitus.

Die hohe Insulinsensitivität des Fettgewebes einerseits, der biphasische Wirkungsablauf der Nicotinsäure im Fettstoffwechsel (Carlson und Orö 1962, Pinter und Pattee 1967) andererseits, waren Veranlassung, diesen Lipolysehemmer im akuten Belastungsverfahren bei stoffwechselstabilen und stoffwechsellabilen Diabetikern einzusetzen. Dabei sollten kausale Beziehungen zwischen Metabolitverhalten und Hormonkonzentrationsänderungen im Blut aufgezeigt und Möglichkeiten der metabolischen Differenzierung beider Stoffwechseltypen geprüft werden.

Methodik

a) klinische Versuche. Die 30-minütige Na-Nicotinat-Infusion¹ wurde bei 73 insulinbedürftigen Diabetikern und 7 Stoffwechselgesunden durchgeführt. Die Einteilung der Diabetiker in 3 Gruppen wurde nach den vorherrschenden klinischen Merkmalen vorgenommen, wobei die Einstellbarkeit des KH-Stoffwechsels, gemessen an den Fluktuationen der Glykämie und Glucosurie, der Ketose- und Hypoglykämieeigung, sowie die Symptomatik der vegetativen Labilität (Dermographismus, Lidflattern, Zungenwogen, feuchtkalte Hände) als Kardinalsymptome galten. 17 stoffwechselstabile Diabetiker (Gruppe I) waren durch ein mittleres Alter von 24,9 Jahren, einer Diabetesdauer von 5,0 Jahren, einem exogenen Insulinbedarf von $33,5 \pm 1,51$ E/die bei einer Zufuhr von 301,2 g Kohlenhydraten/die charakterisiert. Das Durchschnittsalter der 16 stoffwechselstabilen Diabetiker mit vegetativer Labilität (Gruppe II) betrug 27,2 Jahre, die Diabetesdauer 4,8 Jahre und der Insulinbedarf $30,0 \pm 2,83$ E/die bei einer Zufuhr von 266,4 g Kohlenhydraten/die. 40 stoffwechsellabile Diabetiker (Gruppe III) waren durch ein mittleres Alter von 29,1 Jahren, eine Diabetesdauer von 9,2 Jahren, einen exogenen Insulinbedarf von $55,2 \pm 1,81$ E/die bei einer Zufuhr von 297,6 g Kohlenhydraten/die gekennzeichnet. Das Durchschnittsalter der gesunden Probanden (Gruppe IV) betrug 25,4 Jahre.

Nach dem nächtlichen, 12-stündigen Fasten wurde den Probanden um 6.30 Uhr eine Kanüle in die Cubitalvene gelegt und eine 0,9%-ige NaCl-Infusion zum

Offenhalten der Kanüle angeschlossen. Nach Abnahme der Nüchternparameter um 7.00 Uhr wurden in den nächstfolgenden 30 min 300 mg Na-Nicotinat, gelöst in 150 ml physiologischer Na-CL-Lösung, infundiert. Die Bestimmung der kapillären Blutglucose nach Hugget u. Nixon (1957) sowie der freien Fettsäuren (FFS) nach Duncombe (1964) erfolgte in 15- bzw. 30-minütigen Intervallen. Die Analysen von Glycerin nach Eggstein u. Kreutz (1966a, b), Aceton nach Krainick (1938), Pyruvat und Lactat in Anlehnung an Hohorst et al. (1959) und Bücher et al. (1962) mittels des optischen Tests, der Plasmakatecholamine nach Anton u. Sayre (1962), der 11-Hydroxycorticoide (11-OH-CS) nach einer auf Grund der Angaben von Nielsen u. Asfeldt (1967) modifizierten Methode sowie der fat-pad ILA mittels der C¹⁴-1-Glucose-Oxydation durch Nebenhodenfettgewebe von Ratten nach Renold et al. (1960) wurden zu den beobachteten maximalen Konzentrationsänderungen der FFS, nämlich zu den Blutentnahmezeiten 0, 45, 90 und 150 min, vorgenommen.

b) in vitro-Versuche. Die Incubationsversuche mit 1 mM Na-Nicotinat wurden an Langerhans'schen Inseln aus Pankreata normaler weißer Mäuse (Stamm AB, 26–30 g, Standardfutter — VEB Mischfutterwerk Altglienicke — ad libitum) durchgeführt. Die Isolierung erfolgte durch kurze Kollagenasevorbehandlung (Biochemical Corporation, Worthington) mit anschließender Feinpräparation unter dem Stereomikroskop in einer peltiergeköhlten Kammer bei 0°C. Die Tiere fasteten 16 Std. vor dem Tod, erhielten lediglich Wasser ad libitum. Die Incubation von 10 isolierten Inseln erfolgte in 1 ml Krebs-Ringer-Bicarbonatpuffer (pH 7,4; 2 mg/ml Glucose und lyophilisiertes Rinderalbumin) bei 37°C 120 min mit einer Schüttelfrequenz von 80 min⁻¹ (Gasphase 95% O₂ und 5% CO₂). Die Versuche wurden im Paarvergleich durchgeführt, d. h., daß aus einem Pankreas die Inseln für die Na-Nicotinat- und Kontrollincubation gewonnen wurden. Das Insulin wurde aus 1 : 20 verdünntem Medium radioimmunologisch (IRI) mit der Doppelantikörpermethode (Hales u. Randle 1963) unter Verwendung von J¹²⁵-Insulin (Greenwood et al. 1963) gegen Rinderinsulin als Standard gemessen. Die Insulinsekretionsrate wurde aus der Differenz zwischen dem vor Incubationsbeginn erhaltenen Nullwert und dem nach 120 min Incubation gemessenen Wert berechnet und auf 10 µg Gewebsprotein (Lowry et al. 1951) normiert.

Zur statistischen Charakterisierung errechneten wir die Mittelwerte und deren mittlere Fehler (S.E.M.). Die Beurteilung der Differenzen zwischen den Mittelwerten erfolgte nach dem t-Test. Bei der rechnerischen Differenzierung der Stoffwechseltypen wurde die lineare Diskriminanzanalyse (Weber 1964) angewandt.

Ergebnisse

1. Fettstoffwechselparameter (Abb.1)

a) FFS. Unter der 30-minütigen Nicotinsäureinfusion sinkt die FFS-Konzentration bei allen Proban-

¹ Nikodan „Philopharm“.

den bereits nach 15 min ab. Das Maximum der absoluten Konzentrationsverminderung wird nach 45 min beobachtet und steht in positiver Korrelation zum Ausgangswert (Gr. I: $r = 0,942$; Gr. II: $r = 0,943$; Gr. III: $r = 0,872$; Gr. IV: $r = 0,976$; $P < 1\%$).

Der FFS-Rebound setzt bei stoffwechsellabilen Diabetikern bereits zwischen der 45. und 60. min ein ($+0,065 \pm 0,025$ mval/l, $P < 5\%$). In den beiden Gruppen der stoffwechselstabilen Diabetiker läßt sich die beobachtete Konzentrationsänderung in diesem Zeitintervall mit $+0,018 \pm 0,037$ mval/l (Gr. I) und $+0,034 \pm 0,035$ mval/l (Gr. II) statistisch nicht sichern. Das Maximum wird bei allen Probanden nach 150 min erreicht. Das Ausmaß des FFS-Rebound, gemessen zwi-

b) *Glycerin*. Als Ausdruck des Lipolyse-inhibierenden Effektes der Nicotinsäure tritt in den ersten 45 min des Versuchs ein Abfall der Glycerinkonzentration bei Diabetikern ein, dessen Ausmaß in signifikanter Korrelation zum Nüchternwert steht (Gr. I: $r = 0,929$; Gr. II: $r = 0,642$; Gr. III: $r = 0,942$). Nachfolgend setzt der Wiederanstieg ein, der in der Gruppe I zum Zeitpunkt 90 min, in den Gruppen II und III zum Zeitpunkt 150 min das Maximum erreicht. Entsprechend den höheren FFS-Konzentrationen ist der Glycerin-Rebound im Zeitintervall 45 bis 150 min mit $0,106 \pm 0,007$ mMol/l (Gr. II) bzw. $0,145 \pm 0,017$ mMol/l (Gr. III) im Vergleich zu stoffwechselstabilen Probanden ($0,073 \pm 0,016$ mMol/l) stärker ausgeprägt ($1\% < P$

Abb. 1. Veränderungen der Blutkonzentrationen von Glucose und Fettstoffwechselparametern bei Diabetikern (I = stw.-stabil, II = stw.-stabil + vegetativ-labil, III = stw.-labil) und Gesunden (IV) nach 30-minütiger Nicotinsäureinfusion

schen der 45. und 150. min, steigt in der Reihenfolge Stoffwechselgesunde ($+0,33 \pm 0,076$ mval/l), stoffwechselstabile Diabetiker ($+0,77 \pm 0,067$ mval/l), stoffwechselstabile Diabetiker mit vegetativer Labilität ($+0,83 \pm 0,094$ mval/l), stoffwechsellabile Diabetiker ($+1,13 \pm 0,054$ mval/l) an. Dabei ist bemerkenswert, daß weder bei Gesunden noch bei den Diabetikern positive Korrelationen zwischen der Größenordnung des FFS-Rebound und dem Nüchternwert oder dem initialen FFS-Konzentrationsabfall bestehen.

$< 5\%$). Das Fehlen echter Korrelationen zwischen dem initialen Glycerinabfall und dem nachfolgenden Anstieg deutet an, daß der Rebound nicht als einfacher autoregulativer Vorgang anzusehen ist.

c) *Aceton*. Entsprechend der kurzfristigen Lipolysehemmung werden die Blutacetonkonzentrationen bei Diabetikern bis 45 min nach Versuchsbeginn nicht signifikant alteriert. Dagegen tritt in Relation zum beobachteten FFS-Rebound zwischen der 90. und 150. min eine Erhöhung ein, die sich bei Diabetikern der

Gruppe II mit $3,19 \pm 1,20$ mg% ($P < 5\%$) und der Gruppe III ($5,30 \pm 1,07$ mg%; $P < 1\%$) statistisch sichern läßt.

2. Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels

a) *Blutglucose* (Abb. 1). Die Blutglucosespiegel werden bei Gesunden und stoffwechselstabilen Diabetikern wie bei den NaCl-Kontrollversuchen weder während

b) *Pyruvat und Lactat* (Tabelle 1). Die Konzentrationen beider Metaboliten werden durch die Nicotinsäureinfusion bei Diabetikern nicht beeinflusst. Der initial in den beiden stoffwechselstabilen Gruppen zu beobachtende Konzentrationsanstieg des Pyruvats bzw. der bei stoffwechselstabilen Diabetikern auftretende Abfall der Lactatkonzentration läßt sich statistisch nicht sichern.

Tabelle 1. Verhalten der Serumkonzentrationen von Pyruvat und Lactat bei Diabetikern unter Nicotinsäureinfusion (Mittelwerte $\pm$ S.E.M.)

Stoffwechseltyp	n	Pyruvat μ Mol/g Vollblut				Lactat μ Mol/g Vollblut			
		0'	45'	90'	150'	0'	45'	90'	150'
I	10	0,063 $\pm 0,0067$	0,076 $\pm 0,0062$	0,076 $\pm 0,0087$	0,064 $\pm 0,0095$	0,71 $\pm 0,047$	0,75 $\pm 0,074$	0,93 $\pm 0,220$	0,72 $\pm 0,073$
II	7	0,069 $\pm 0,0112$	0,071 $\pm 0,0083$	0,060 $\pm 0,0084$	0,055 $\pm 0,0054$	0,73 $\pm 0,098$	0,69 $\pm 0,102$	0,84 $\pm 0,255$	0,63 $\pm 0,044$
III	22	0,070 $\pm 0,0047$	0,071 $\pm 0,0057$	0,065 $\pm 0,0052$	0,063 $\pm 0,0045$	0,85 $\pm 0,050$	0,72 $\pm 0,053$	0,78 $\pm 0,051$	0,85 $\pm 0,066$

Tabelle 2. Plasmakatecholamin- und 11-OH-CS-Konzentrationen bei Diabetikern unter Nicotinsäureinfusion (Mittelwerte $\pm$ S.E.M.)

Stoffwechseltyp	n	Katecholamine μ g/l				n	11-OH-CS μ g/100 ml			
		0'	45'	90'	150'		0'	45'	90'	150'
I	10	12,4 $\pm 1,73$	15,6 $\pm 2,74$	13,3 $\pm 2,07$	14,0 $\pm 1,72$	8	21,3 $\pm 4,33$	12,2 $\pm 1,70$	20,6 $\pm 5,32$	13,3 $\pm 2,31$
II	6	7,5 $\pm 1,14$	9,1 $\pm 2,36$	13,2 $\pm 3,18$	9,3 $\pm 2,18$	8	15,4 $\pm 4,30$	18,3 $\pm 3,49$	10,5 $\pm 3,37$	15,5 $\pm 4,22$
III	21	14,5 $\pm 2,30$	14,8 $\pm 2,22$	16,5 $\pm 2,27$	15,4 $\pm 1,77$	21	17,8 $\pm 2,03$	13,8 $\pm 1,87$	17,2 $\pm 2,04$	17,1 $\pm 1,53$

Tabelle 3. Negative Relationen zwischen FFS-Rebound und Konzentrationsveränderungen der ILA unter Nicotinsäureinfusion

Stoffwechseltyp	Pat. Nr.	Alter (J.)	DD (J.)	Insulinbedarf E/die	ILA μ E/ml Serum				FFS-Anstieg 45' - 150' mval/l
					0'	45'	90'	150'	
Stw.-labiler D. m.	15107	32	6	40	10	34	12	10	1,12
	5674	39	12	48	10	10	10	10	2,00
	3910	42	21	54	10	17	10	10	1,12
Stw.-stabiler D.m.	15036	35	3	30	80	270	200	200	0,75
	15154	31	2	44	20	90	50	32	0,58
Diätbedürftiger D. m.	15011	31	0,5	Ø	148	600	360	440	0,28
Stoffwechselgesunder	13031	40	Ø	Ø	164	276	280	220	0,26

der Nicotinsäureinfusion noch des nachfolgenden Untersuchungszeitraums signifikant verändert. Stoffwechselstabile Probanden zeichnen sich dagegen durch einen Konzentrationsanstieg der Glucose von $+ 98 \pm 8,97$ mg% ($P < 1\%$) im Zeitintervall 0 bis 180 min aus. Dieser steht jedoch nicht in Zusammenhang mit der Nicotinsäureinfusion, da er auch in Kontrollversuchen mit physiologischer Kochsalzlösung bei stoffwechselstabilen Diabetikern in dieser Größenordnung ($+ 96,9 \pm 11,23$ mg%; $P < 1\%$) auftrat.

3. Hormone (Tabelle 2)

a) *Plasmakatecholamine*. Bei Diabetikern der Gruppen I und III ist kein Nicotinsäureeffekt auf die Plasmakatecholaminkonzentration nachweisbar. Lediglich bei Probanden mit vegetativer Labilität, deren mittlere Nüchternwerte auffallend niedrig sind, wird eine ansteigende Tendenz bis zur 90. min beobachtet, die sich statistisch jedoch nicht sichern läßt.

b) *11-OH-CS*. Stoffwechselstabile (Gruppe III) und stoffwechselstabile Diabetiker (Gruppe I) reagieren un-

ter Nicotinsäureeinwirkung initial mit einem Abfall der 11-OH-CS-Konzentration, die sich bei ersteren statistisch sichern läßt ($P < 1\%$). Zwischen der 45. und 90. min tritt in beiden Gruppen ein Wiederanstieg bis in Nüchternwerthöhe auf. Vegetativ-labile Probanden (Gruppe II) weisen ein konträres Verhalten der 11-OH-CS-Konzentrationen auf. Der in den Gruppen I und III zu beobachtende Wiederanstieg fällt zeitlich mit dem FFS-Rebound zusammen, signifikante Korrelationen zwischen beiden Parametern lassen sich jedoch nicht berechnen.

Abb. 2. Mittelwerte ($\pm$ S.E.M.) der Insulinsekretionsraten isolierter Langerhans'scher Inseln nach 120 min Incubation mit Glucose (2 mg/ml, linke Säule) und Glucose + Na-Nicotinat (1 mMol, rechte Säule)

c) ILA (Tabelle 3). Die unterschiedliche quantitative Ausprägung des FFS-Rebound sowie das Plateau des FFS-Verlaufs zwischen der 90. und 180. min bei Stoffwechselgesunden lenkte das Interesse auf das Wirksamwerden des endogenen Insulins unter Nicotinsäureeinfluß. Daher wurde bei 7 orientierenden Belastungen die ILA zu den Zeiten 0, 45, 90 und 150 min bestimmt. Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, verursacht Nicotinsäure bei stoffwechselstabilen Diabetikern und Gesunden einen signifikanten Anstieg der ILA-Konzentration, deren Maximum 45 min nach Versuchsbeginn nachweisbar ist. Im Gegensatz dazu ist bei stoffwechsellabilen Diabetikern keine Wirkung zu konstatieren. Aus der Tabelle 3 geht weiter hervor, daß das Ausmaß des FFS-Rebound in negativer Korrelation zu der zum Zeitpunkt 45 min gemessenen absoluten ILA-Konzentration steht, wie es sich durch Berechnung der Rangkorrelation nach Lienert (1962) $r = -0,92$ statistisch sichern läßt.

d) *in vitro*-Incubationsversuche mit Nicotinsäure (Abb. 2). Zur Bestätigung des *in vivo* gemessenen Einflusses der Nicotinsäure auf die Stimulation der Insulinsekretion wurden in 6 Paarvergleichen die Insulinfreisetzung isolierter Langerhans'scher Inseln bei

Incubation mit 1 mMol Na-Nicotinat in Anwesenheit von Glucose gemessen. Aus Abb. 2 ist ersichtlich, daß Nicotinsäure einen signifikanten Anstieg der Insulinausschüttung hervorruft, der mehr als das Doppelte des unter Glucoseincubation allein beobachteten beträgt.

4. Metabolische Differenzierung der Diabetesgruppen (Abb. 3)

Die registrierten Unterschiede im Verhalten von Blutglucose-, FFS- und Glycerinkonzentrationen unter der Nicotinsäurebelastung zwischen stoffwechselstabilen und stoffwechsellabilen Diabetikern veranlaßte, nach weiteren Charakteristika für die metabolische Differenzierung beider Stoffwechseltypen zu suchen. Die Stimulation der endogenen ILA lenkte das Augenmerk auf die bei gleicher Kohlenhydratzufuhr zur Stoffwechselkompensation erforderliche exogene Insulindosis. Sie differiert bei den untersuchten Probanden zwischen dem stabilen und labilen Stoffwechseltyp signifikant um 22 E/die. Somit wurden in das mathematische Modell der Differenzierung mit einbezogen:

1. Der Glucoseanstieg im Zeitraum 0–180 min (x_1).
2. Die bei einer mittleren Kohlenhydratzufuhr von 300 g zur Stoffwechselkompensation erforderliche tägliche exogene Insulindosis (x_2).
3. Der FFS-Anstieg im Zeitraum 45 bis 150 min (x_3).

Abb. 3. Differenzierung des Stoffwechseltyps mittels der 30-minütigen Nicotinsäureinfusion nach der zwischen 0 und 180 min berechneten Blutglucosedifferenz (x_1), dem mittleren exogenen Insulinbedarf (x_2) und der zwischen 45 und 150 min errechneten FFS-Differenz (x_3) mittels der durch Varianzanalyse aufgestellten Trennformel T. (S = stw.-stabiler D. m.; V = stw.-stabiler D. m. mit vegetativer Labilität; L = stw.-labiler D. m.)

Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse (s. bei Weber 1964) wurde aus den in den Gruppen I und III erhaltenen Werten eine Trennformel errechnet. Sie geht aus

der Lösung eines linearen Gleichungssystems hervor, dessen Koeffizienten die Korrelationen zwischen den Größen bzw. deren Standardabweichungen darstellen. Das Ergebnis lautet:

$$T = 0,74 \cdot x_1 + 5 \cdot x_2 + 118 \cdot x_3$$

Die Abb. 3 demonstriert, daß keine der drei Einzelfaktoren eine sichere Trennung in den labilen und stabilen Stoffwechseltyp gestattet. Dagegen läßt sie sich aus den nach der Formel errechneten T -Werten durchführen. Die Schranke liegt bei einem T -Wert von 300; d.h., alle Diabetiker mit einem $T < 300$ gehören dem stabilen, diejenigen mit einem $T > 300$ dem labilen Stoffwechseltyp an. Die Gruppe der stabilen Diabetiker mit vegetativer Labilität nimmt — wenn man ihre Werte in die Trennformel einsetzt — eine Mittelstellung ein. Die überwiegende Mehrheit ist allerdings dem stabilen Stoffwechseltyp zuzurechnen.

Diskussion

Der Lipolyse-inhibierende Effect der Nicotinsäure, der sich *in vivo* im Absinken der FFS- und Glycerinkonzentrationen manifestiert, ist auf die rasche Akkumulation der Substanz im Fettgewebe zurückzuführen (Eaton 1963, Björntorp 1965, Carlson 1965, Schwandt et al. 1967). Nach Untersuchungen von Butcher et al. (1968), Schwandt u. Hartmann (1968) erfolgt die Lipolysehemmung über die Verminderung des zyklischen 3',5'-AMP-Gewebsspiegels infolge Aktivierung der Phosphodiesterase (Krishna et al. 1966). Das sehr schnelle Abklingen des Effekts beruht auf der relativ kurzen Halbwertszeit. 30 bis 60 min nach oraler Applikation von 0,5 bzw. 1,0 g Nicotinsäure registrierten Gicoulhiac et al. (1962), Carlson et al. (1968) das Maximum der Nicotinsäurekonzentration im Blut, welcher mit der maximalen Depression der FFS-Konzentration einherging. Dagegen ließen nach 3 bis 4 Std. gemessene Nicotinsäurekonzentrationen von 3,8 bis 1,0 µg/l den Lipolysehemmenden Effekt bereits vermissen. Daraus kann auf Grund der Konzentrationsveränderungen der FFS in unseren Versuchen gefolgert werden, daß die Nicotinsäure 60 min nach Infusionsende bereits eliminiert worden ist. Im Gegensatz zu den Fettstoffwechselparametern werden die Blutkonzentrationen der Glucose und deren Metaboliten durch Na-Nicotinat nicht signifikant beeinflusst (Pinter u. Pattee 1967, Carlson u. Östman 1965). Das schließt selbstverständlich die von Hepp et al. (1968) sowie Taskinen u. Nikkilä (1968) nachgewiesene Steigerung der Glucoseoxydation und C^{14} -Inkorporation in Fettgewebe-TG aus C^{14} -Glucose (Nikkilä 1968) unter Nikotinsäureeinfluß nicht aus.

Das rasche Sistieren der Nikotinsäurewirkung allein erklärt jedoch nicht den überschießenden FFS-Rebound, wie wir ihn übereinstimmend [mit Carlson et al. (1968), Gross u. Carlson (1968), Pinter u. Pattee (1967) nachweisen konnten. Er ist auf eine sekundäre Stimulation der Lipolyse zurückzuführen, wie es das Ver-

halten der Serumglycerinkonzentration beweist. Ursächlich ist nach den tierexperimentellen Befunden von Pereira (1967) eine sekundäre Sekretionssteigerung des HVL-Adrenalsystems in Betracht zu ziehen. Dabei kommt den 11-OH-CS wahrscheinlich eine größere Bedeutung für die Induktion der Lipolysestimulation zu als den Katecholaminen (Pereira 1967). Die fehlenden Korrelationen zwischen FFS-Rebound und Konzentrationsanstieg der 11-OH-CS in unseren Untersuchungen sprechen nicht unbedingt gegen diese Annahme. Sie sind auf Grund der weitmaschig durchgeführten Parameterbestimmungen und der permissiven Rolle der Glucocorticoide bei der Lipolysestimulation (Fain 1968) kaum zu erwarten. Es scheint — wie wir auch bei der Lipolysehemmung mit 5-Methylpyrazol-3-Carbonsäure nachweisen konnten (unveröffentlichte Befunde) — eine geringe Steigerung der Glucocorticoidsekretion in der Lage zu sein, das lipolytische System im Fettgewebe für die Wirkung anderer Lipolyse-stimulierender Hormone zu sensibilisieren.

Das Ausmaß des FFS-Rebound nach der Nicotinsäureapplikation ist jedoch im wesentlichen abhängig von der Stimulierbarkeit der endogenen ILA. Wenn auch die orientierenden Untersuchungsergebnisse keine bindende Aussagekraft für das Gesamtkollektiv besitzen, so spricht einmal die positive Korrelation des exogenen Insulinbedarfs zur Höhe des FFS-Rebound für die Echtheit des Befundes. Zum anderen wird die Hypothese durch die Nicotinsäureinduzierte Stimulation der Insulinsekretion isolierter Langerhans'scher Inseln bestätigt. Wenn mit den ILA-Bestimmungen im fat pad auf Grund der allein durch Na-Nicotinat erzeugbaren Steigerung der Glucoseoxydation (Hepp et al. 1968), die die Grundlage der ILA-Messung darstellt, noch falsch positive Werte erhalten werden konnten, so ist das durch die radioimmunologischen Insulinbestimmungen bei den *in vitro* Untersuchungen ausgeschlossen. Letztere wurden in der Anordnung den *in vivo* beobachteten ILA-Veränderungen angepaßt, so daß neben der durch die Entspeicherung charakterisierten 1. Phase auch die metabolisch regulierte 2. Phase der Insulinsekretion miterfaßt wurde (Curry et al. 1968). Unsere *in vitro* Untersuchungsergebnisse stehen im Widerspruch zu denen von Malaisse et al. (1967), die an Rattenpankreaschnitten bei geringerer Glucosekonzentration und kürzerer Incubationsdauer nur eine unbedeutende Steigerung der Insulinabgabe fanden. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse ist nicht möglich, da unterschiedlich vorbehandeltes Tiermaterial und differente Methoden der IRI-Bestimmungen verwendet wurden.

Dagegen stehen unsere *in vivo* Ergebnisse in Einklang mit IRI-Messungen von Miettinen et al. (1968), die bei Stoffwechselgesunden unter kombinierten Glucose-Nicotinsäuregaben eine höhere Insulinausschüttung nachwiesen als unter alleiniger Glucoseapplikation.

Der Wirkungsmechanismus, der zur gesteigerten Insulinfreisetzung führt, ist unklar. Kausal ist an eine

gesteigerte Bereitstellung des NAD aus Nicotinsäure (Bekierkunst u. Windman 1968) zu denken, welches die unmittelbare Muttersubstanz des NADP darstellt. NADP verursacht per se eine Stimulation der Insulinsekretion (Watkins u. Cooperstein 1968). Andererseits besteht die Möglichkeit, daß Nicotinsäure — ebenso wie in der Fettzelle (Hepp et al. 1968) — auch in der B-Zelle den Glucoseumsatz durch den Pentose-Phosphat-Shunt steigert, dessen Bedeutung für die Insulinsekretion Montague u. Taylor (1968) nachweisen konnten.

Zurückkommend auf die einleitende Fragestellung kann die metabolische Differenzierung zwischen labilem und stabilem Stoffwechseltyp mittels des Nicotinsäure-induzierten FFS-Rebound und des Blutglucoseverhaltens verifiziert werden. Die Abhängigkeit des Ausmaßes der sekundären Lipolysesteigerung von der Stimulierbarkeit des endogenen Insulins bzw. der insulinähnlichen Aktivität gestattet gewisse Rückschlüsse auf eine vorhandene Restaktivität der B-Zellen beim insulinbedürftigen Diabetes mellitus. Damit ist der juvenil-manifestierte Diabetes vom labilen Stoffwechseltyp durch das absolute endogene Insulindefizit (Paulsen et al. 1968, Parker et al. 1968) charakterisiert, während beim juvenilen Diabetes mit stabilem Stoffwechselverhalten — analog dem maturity-onset Diabetes (Floyd et al. 1968) — eine Stimulation der endogenen Insulinsekretion möglich ist.

Literatur

- Anton, A.H., Sayre, D.F.: A study of the factors affecting aluminium oxide trihydroxyindole procedure for the analysis of catecholamines. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **138**, 360—371 (1962).
- Bekierkunst, A., Windman, I.: Nicotinic acid induced NAD synthesis in polymorphonuclear leucocytes. *Life Sci.* **7**, 539—543 (1968).
- Björntorp, P.: The effect of nicotinic acid on adipose tissue metabolism *in vitro*. *Metabolism* **14**, 836—839 (1965).
- Bücher, Th., Czok, R., Lamprecht, W., Latzko, E.: Pyruvat. In: *Methoden der enzymatischen Analyse*, S. 253. Ed.: Bergmeyer, H.-U. Weinheim/Bergstr.: Verl. Chemie, 1962.
- Butcher, R.W., Baird, Ch.E., Sutherland, E.W.: Effects of lipolytic and antilipolytic substances on adenosine 3', 5'-monophosphate levels in isolated fat cells. *J. biol. Chem.* **243**, 1705—1712 (1968).
- Carlson, L.A.: Inhibition of the mobilization of free fatty acids from adipose tissue. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **131**, 119—142 (1965).
- Orö, L.: The effect of nicotinic acid on the plasma free fatty acids. Demonstration of a metabolic type of sympathetic lysis. *Acta med. scand.* **172**, 641—645 (1962).
- Östman, J.: Effect of a single dose of nicotinic acid on plasma lipids in patients with hyperlipoproteinaemia. *Acta med. scand.* **183**, 457—465 (1968).
- Östman, J.: Inhibition of the mobilization of free fatty acids from adipose tissue in diabetes. II. Effect of nicotine and acetylsalicylate on blood glucose in human diabetics. *Acta med. scand.* **178**, 71—79 (1965).
- Curry, D.L., Bennett, L.L., Grodsky, G.M.: Dynamics of insulin secretion by the perfused rat pancreas. *Endocrinology* **83**, 572—584 (1968).
- Dolger, H.: Is juvenile diabetes always insulin deficient? On the significance of occasional success in treatment of diabetic children with oral therapy exclusively. 4. Congr. I. D. F. Genf 1961, S. 356.
- Duncombe, W.G.: The colorimetric micro-determination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin. chim. Acta* **9**, 122—125 (1964).
- Eaton, R.Ph.: *In vitro* inhibition of the fat-mobilizing action of norepinephrine. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **114**, 599—605 (1963).
- Eggstein, M.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. II. Mitteilung: Zuverlässigkeit der Methode, andere Neutralfettbestimmungen, Normalwerte für Triglyzeride und Glycerin im menschlichen Blut. *Klin. Wschr.* **44**, 267—273 (1966b).
- Eggstein, M., Kreutz, F.H.: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. I. Mitteilung: Prinzip, Durchführung und Besprechung der Methode. *Klin. Wschr.* **44**, 262—267 (1966a).
- Fain, J.N.: Effect of dibutyl-3', 5'-AMP, theophylline and norepinephrine on lipolytic action of growth hormone and glucocorticoid in white fat cells. *Endocrinology* **82**, 825—830 (1968).
- Fajans, S.S., Conn, J.W.: Prediabetes, subclinical diabetes and latent clinical diabetes: interpretation, diagnosis and treatment. In: *On the nature and treatment of diabetes*. Ed.: B.S. Leibel a. G.A. Wrenshall, *Excerpta med. Found. N.Y.* 1965, p. 641.
- Floyd, J.C., Fajans, S.S., Conn, J.W., Tihiffault, Ch., Knopf, R.F., Guntz, E.: Secretion of insulin induced by amino acids and glucose in diabetes mellitus. *J. clin. Endocr.* **28**, 266—276 (1968).
- Gepts, W.: Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* **14**, 619—633 (1965).
- Ginoulhiac, E., Tenconi, L.T., Chiancone, F.M.: 3-pyridineacetic acid and nicotinic acid: Blood levels, urinary elimination and excretion of nicotinic acid derivatives in man. *Nature* **193**, 948—949 (1962).
- Greenwood, F.C., Hunter, W.M., Glover, J.S.: The preparation of ¹³¹I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem. J.* **89**, 114—123 (1963).
- Gross, R.C., Carlson, L.A.: Metabolic effects of nicotinic acid in acute insulin deficiency in the rat. *Diabetes* **17**, 353—361 (1968).
- Hales, C.N., Randle, P.J.: Immunoassay of insulin with insulin-antibody precipitate. *Biochem. J.* **88**, 137—146 (1963).
- Hepp, D., Challoner, D.R., Williams, R.H.: Studies on the action of insulin in isolated adipose tissue cells. *J. biol. Chem.* **243**, 4020—4026 (1968).
- Hohorst, H.J., Kreutz, F.H., Bücher, Th.: Über Metabolitgehalte und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte. *Biochem. Z.* **332**, 18—46 (1959).
- Hugget, A.St.G., Nixon, D.A.: Enzymic determination of blood glucose. *Biochem. J.* **66**, 12 (1957).
- Joslin, E.P., Root, A.F., White, P., Marble, A.: *The treatment of diabetes mellitus*, S. 296. Philadelphia: Lea u. Febiger, 1959.
- Krainick, H.G.: Zur Physiologie und Pathologie des intermediären Fettstoffwechsels. I. Mitt.: Bestimmung der Ketonkörper in kleinen Blutmengen. *Klin. Wschr.* **17**, 450—451 (1938).
- Krishna, G., Weiss, B., Davies, J.I., Hynie, S.: Mechanism of nicotinic acid inhibition of hormone-induced lipolysis. *Fed. Proc.* **25**, 719—724 (1966).
- Lienert, G.A.: Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik, S. 194. Weisenheim am Glan: Verl. Anton Hain 1962.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.* **193**, 265—275 (1951).
- Malaisse, W.J., Malaisse-Lagüe, F., Mayhew, D.: A possible role for the adenylcyclase system in insulin secretion. *J. clin. Invest.* **46**, 1724—1734 (1967).

- Miettinen, T.A., Taskinen, M.-R., Pelkonen, R., Nikkilä, E.A.: Effect of nicotinic acid on glucose utilization and plasma insulin in human subjects. *Diabetologia* **4**, 311 (1968).
- Molnar, G.D.: Observations on the etiology and therapy of "brittle" diabetes. *Canad. med. Ass. J.* **90**, 953–959 (1964).
- Montague, W., Taylor, K.W.: Insulin secretion and the intracellular concentrations of glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconate in isolated islets of Langerhans. *Biochem. J.* **109**, 30 (1968).
- Nielsen, E., Asfeldt, V.H.: Studies on the specificity of the fluorimetric determination of plasma corticosteroids ad modum De Moor and Steeno. *Scand. J. clin. Lab. Invest.* **20**, 185–194 (1967).
- Nikkilä, E.A.: Effect of nicotinic acid on incorporation of glucose-C¹⁴ into triglycerides. *Diabetologia* **4**, 312 (1968).
- Parker, M.L., Pildes, R.S., Chao, K.L., Cornblath, M., Kipnis, D.M.: Juvenile diabetes mellitus, a deficiency in insulin. *Diabetes* **17**, 27–32 (1968).
- Poulsen, J.E., Jørgensen, K.R., Brunsfeldt, K.: Investigaciones acerca de la insulina plasmática en sujetos normales, obesos y diabéticos. *Diab. clin. Endocr. y Nutr.* **3**, 207–223 (1968).
- Pereira, J.N.: The plasma free fatty acid rebound induced by nicotinic acid. *J. Lipid Res.* **8**, 239–244 (1967).
- Pildes, R.S., Cornblath, M.: Personal communication (1967), zitiert bei D.M. Kipnis: Insulin antagonism and diabetes mellitus. In: *Diabetes*. Ed.: J. Östman. Proc. 6. Congr. I. D. F. Stockholm 1967. *Excerpta Med. Found.*, Amsterdam 1969, S. 257.
- Pinter, E.J., Pattee, C.J.: Biphasic nature of blood glucose and free fatty acid changes following intravenous nicotinic acid in man. *J. clin. Endocr.* **27**, 440–443 (1967).
- Renold, A.E., Martin, D.B., Dagenais, Y.M., Steinke, J., Nickerson, R.I., Sheps, M.C., Lauris, V.: Measurement of small quantities of insulin-like-activity using fat adipose tissue. I. A proposed procedure. *J. clin. Invest.* **39**, 1499–1510 (1960).
- Schwandt, P., Hartmann, Th., Karl, H.J.: Der Einfluß von Nicotinsäure und Propranolol auf die lipolytische Wirkung von Catecholaminen und Peptidhormonen *in vitro*. *Z. ges. exp. Med.* **143**, 79–84 (1967).
- — Untersuchungen zur Wirkung der Nikotinsäure auf die stimulierte Lipolyse. *Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.* **6**, 497–498 (1968).
- Somogyi, M.: Unstable "brittle" diabetes. 4. Congr. I. D. F. Genf 1961, S. 301.
- Taskinen, M.R., Nikkilä, E.A.: Insulin action in fat cells; effect of intra- and extra-cellular fatty acid concentration. *Diabetologia* **4**, 314 (1968).
- Vallance-Owen, J., Hurlock, B., Pease, N.W.: Plasma insulin activity in diabetes mellitus. *Lancet* **1955 II**, 583–587.
- Watkins, D., Cooperstein, S.J.: Insulin secretion from toadfish islet tissue stimulated by pyridine nucleotides. *Science* **162**, 283–284 (1968).
- Weber, E.: *Grundriß der biologischen Statistik*. 5. Auflage. Jena: Fischer 1964.
- Woodyatt, R.T.: Diabetes mellitus. In: *Textbook of medicine*, S. 628. Ed.: R.L. Cecil. Philadelphia: W.B. Saunders Company 1934.

OA Dr. med. D. Michaelis
 Institut für Diabetes
 „Gerhardt Katsch“
 DDR-2201 Karlsburg, Krs. Greifswald