

Serumglykoproteine beim Diabetes mellitus; quantitative immunologische Bestimmung von saurem α_1 -Glykoprotein, Gc, α_2 -Makroglobulin und Hämopectin bei Diabetikern mit und ohne Angiopathien*

H. CLEVE, K. ALEXANDER, H. J. MITZKAT, P. NISSEN und I. SALZMANN

Institut für Humangenetik (Direktor: Prof. Dr. G. G. WENDT) und Medizinische Poliklinik (damal. Direktor: Prof. Dr. F. HARTMANN) der Universität Marburg a. d. Lahn

Eingegangen am 26. April 1967

Serum glycoproteins in diabetes mellitus; quantitative immunological determination of acid α_1 -glycoprotein, Gc, α_2 -macroglobulin and haemopexin in diabetics with and without angiopathy

Summary. 1. Serum concentrations of acid α_1 -glycoprotein, Gc, α_2 -macroglobulin and haemopexin were determined in diabetics with and without vascular complications by the immunological assay method of MANCINI and co-workers. — 2. α_2 -macroglobulin concentrations were increased in sera of diabetics. The mean value was 242 mg % in 276 patients compared with the mean value of 186 mg % in a sample of 98 healthy blood-donors. This difference is statistically highly significant. The increase was more pronounced in juvenile diabetes than in late-onset diabetes. The increase was also more pronounced in patients with retinopathy than in patients without retinopathy. There was also an increase of α_2 -macroglobulin concentrations in relation to the degree of arteriosclerotic changes of the peripheral vessels. — 3. Serum concentrations of acid α_1 -glycoprotein and Gc were only slightly increased in diabetics compared with blood-donors. — 4. There was a small, but statistically highly significant increase of haemopexin concentrations in sera of diabetics. The mean value in 243 diabetics was 92 mg %, in 15 healthy blood-donors a mean value of only 77 mg % was found.

Les glycoprotéines du sérum dans le diabète sucré; dosage immunologique quantitatif de l' α_1 -glycoprotéine acide, de Gc, de l' α_2 -macroglobuline et de l'hémopexine chez des diabétiques avec et sans angiopathie

Résumé. 1. On a déterminé les concentrations dans le sérum de l' α_1 -glycoprotéine acide, de Gc, de l' α_2 -macroglobuline et de l'hémopexine, par la méthode de dosage immunologique de MANCINI et Coll., chez des diabétiques avec et sans complications vasculaires. — 2. Les concentrations d' α_2 -macroglobuline sont augmentées dans les sérums des diabétiques. La valeur moyenne était de 242 mg % chez 276 patients, alors qu'elle était de 186 mg % chez 98 donneurs de sang en bonne santé. Cette différence est statistiquement hautement significative. L'augmentation est plus prononcée dans le diabète juvénile que dans le diabète d'apparition plus tardive. L'augmentation est également plus prononcée chez les patients at-

teints de rétinopathie que chez ceux qui en sont exempts. Il y a aussi une augmentation des concentrations d' α_2 -macroglobuline en rapport avec le degré des modifications artériosclérotiques des vaisseaux périphériques. — 3. Les concentrations dans le sérum d' α_1 -glycoprotéine acide et de Gc ne sont que légèrement augmentées chez les diabétiques par comparaison avec les donneurs de sang. — 4. Il y a une augmentation légère, mais statistiquement hautement significative, des concentrations d'hémopexine dans les sérums des diabétiques. La valeur moyenne chez 243 diabétiques était de 92 mg %, chez 15 donneurs de sang en bonne santé la valeur moyenne n'était que de 77 mg %.

Zusammenfassung. 1. Bei Diabetikern mit und ohne Gefäßkomplikationen wurden die Serumkonzentrationen des sauren α_1 -Glykoproteins, der gruppen-spezifischen Komponente (Gc), des α_2 -Makroglobulins und des Hämopectins mit der Immuno-Diffusions-Methode nach MANCINI und Mitarb. quantitativ bestimmt. — 2. Das α_2 -Makroglobulin ist bei Diabetikern vermehrt, bei 276 Patienten fand sich ein Mittelwert von 242 mg % gegenüber einem Mittelwert von 186 mg % bei 98 nicht-diabetischen Blutspendern. Diese Differenz ist statistisch hochsignifikant. Der Konzentrationsanstieg ist bei jugendlichen Diabetikern stärker ausgeprägt als bei Altersdiabetikern. Bei Patienten mit Retinopathie findet sich eine deutlichere Vermehrung als bei Patienten ohne Retinopathie. Auch geht der Anstieg des α_2 -Makroglobulins mit dem Schweregrad arteriosklerotischer Veränderungen der peripheren Gefäße parallel. — 3. Die Konzentrationen des sauren α_1 -Glykoproteins und der gruppen-spezifischen Komponente sind in Seren von Diabetikern gegenüber gesunden Blutspendern nur unwesentlich vermehrt. — 4. Die Hämopectin Konzentration ist bei Diabetikern mit einem Mittelwert von 92 mg % gegenüber gesunden Blutspendern mit einem Mittelwert von 77 mg % gering erhöht; dieser geringe Unterschied ist statistisch hochsignifikant.

Key-words: Quantitative variations of serumglycoproteins in diabetics with and without vascular complications, determination of acid α_1 -glycoprotein, group-specific component (Gc), α_2 -macroglobulin, and haemopexin by immunodiffusion.

Die Glykoproteine des menschlichen Serums sind diejenigen Eiweißkörper, die eine Kohlenhydratprothetische Gruppe tragen, die fest an den Peptidanteil des Proteins geknüpft ist. Es handelt sich dabei um eine heterogene Gruppe sehr verschiedener Proteine, die Präalbumine und zahlreiche α_1 -, α_2 -, β - und γ -Globuline umfaßt, deren physiologische Bedeutung zum Teil noch völlig unbekannt ist (WINZLER, 1960;

SCHULTZE u. HEREMANS, 1966). Schon seit langem ist bekannt, daß Glykoproteine beim Diabetes mellitus im Serum vermehrt auftreten und daß dieser Konzentrationsanstieg bei Diabetikern mit Angiopathien besonders ausgeprägt ist. Der Anstieg der Glykoproteine findet sich vor allem bei Patienten mit

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft

diabetischer Nephropathie und diabetischer Retinopathie, nach anderen Untersuchungen aber auch bei Patienten mit arteriosklerotischen Gefäßveränderungen ohne diabetische Mikroangiopathie. Eine Übersicht über die Serumglykoprotein-Veränderungen beim Diabetes mellitus wurde von WINZLER gegeben (1964). In den Läsionen der diabetischen Nephropathie und der diabetischen Retinopathie sind mit histochemischen Methoden Ablagerungen saurer Mukopolysaccharide nachzuweisen (RANDERATH u. DIEZEL, 1959). Die Ablagerung saurer Mukopolysaccharide und der Anstieg der Glykoproteine im Serum sind immer wieder in Zusammenhang gebracht worden. Man hat einerseits vermutet, daß es sich bei dem histochemisch in den Intima-Plaques nachweisbaren Material um Ablagerung von Glykoproteinen aus dem Serum handelt. Andererseits hat man die Hypothese vertreten, daß der Glykoproteinanstieg im Serum die Folge einer Freisetzung von Kohlenhydrat-haltigen Substanzen aus dem geschädigten Gewebe ist. DORFMAN wies bereits 1960 darauf hin, daß die Unterschiede in Aufbau und Struktur der sauren Mukopolysaccharide und der Kohlenhydrat-prothetischen Gruppe der Serum-Glykoproteine eine derartige direkte Beziehung sehr unwahrscheinlich machen (DORFMAN, 1960).

Die Analyse des Glykoproteinanstiegs beim Diabetes mellitus wurde besonders durch die Tatsache erschwert, daß diese Befunde zumeist mit globalen Untersuchungsmethoden erhoben worden waren, die eine Differenzierung bestimmter einzelner Glykoproteine des Serums nicht gestatteten.

Die verschiedenen Glykoproteine dürften unterschiedliche biologische Funktionen haben und können daher bei pathologischen Prozessen ganz unabhängig voneinander quantitativ variieren. Die Bestimmung der proteingebundenen Hexose oder des Hexosamins, die quantitative Bestimmung der Mukoproteinfraktion nach WINZLER oder die Auswertung PAS-gefärbter Elektrophoresestreifen erlaubt keine Aussage über das Verhalten einzelner Glykoproteine. Diese ist für eine Reihe von Serumglykoproteinen erst durch die Einführung immunologischer Bestimmungsmethoden möglich geworden, unter denen besonders die radiale Immunodiffusion im Agargel nach MANCINI und Mitarbeitern Bedeutung erlangt hat (MANCINI et al., 1963; STRÖRIKO, 1965). In der vorliegenden Arbeit wird über die quantitative immunologische Bestimmung von vier verschiedenen Serumglykoproteinen bei einer großen Stichprobe von Diabetes-Patienten mit und ohne Angiopathien berichtet. Da die Funktion dieser vier Serumproteine noch weitgehend ungeklärt ist, beruht die Auswahl gerade dieser Serumproteine nicht auf einer bestimmten biologischen Hypothese, sondern ist allein mit methodisch-praktischen Erwägungen zu erklären: Für die Bestimmung dieser Proteine standen uns hinreichende Mengen geeigneter Antiseren und Antigen-Präparationen zur Verfügung.

Das saure α_1 -Glykoprotein (Orosomukoid) hat ein Molekulargewicht von 44000 und eine Sedimentations-

konstante von 3.1 S. Der Kohlenhydratanteil dieses Proteins ist mit 41.4% besonders groß, 28.5% davon bestehen aus Acetylneuraminsäure (WEIMER et al., 1950; SCHULTZE et al., 1955). Dieses Protein tritt bei entzündlichen Prozessen, bei Neoplasien und bei traumatischen oder operativ gesetzten Gewebläsionen im Serum vermehrt auf (WINZLER, 1960). — Die gruppen-spezifischen Komponenten (Gc) wurden 1959 von HIRSCHFELD entdeckt (HIRSCHFELD, 1959). Es handelt sich um ein α_2 -Globulin mit genetisch determinierten Variationen, die sich phänotypisch in Unterschieden der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeiten manifestieren (HIRSCHFELD, 1962; CLEVE, 1965). Das Protein hat ein Molekulargewicht von etwa 51000, eine Sedimentationskonstante von 4.1 S und enthält nur 3.3% Kohlenhydrate (CLEVE et al., 1963). Die Serumkonzentration dieses Proteins steigt in der 2. Hälfte der Schwangerschaft an, bei schweren Lebererkrankungen kommt es zu einem Abfall der Serumkonzentration (CLEVE und DENCKER, 1966). — Das α_2 -Makroglobulin hat eine Sedimentationskonstante von 19 S und ein Molekulargewicht von etwa 900000, der Kohlenhydratanteil beträgt rund 8% (SCHULTZE et al., 1955; SCHÖNENBERGER et al., 1958). Dieses Glykoprotein hat die Fähigkeit die proteolytische Wirkung von Plasmin und Trypsin zu inhibieren (SCHULTZE et al., 1963). — Hämopexin ist ein β_1 -Globulin mit einer Sedimentationskonstante von 4.8 S, entsprechend einem Molekulargewicht von etwa 80000. Der Kohlenhydrat-Anteil des Proteins beträgt etwa 20% (SCHULTZE et al., 1961). Es hat die Fähigkeit Häm in zu binden (NEALE et al., 1958; BISERTE et al., 1960; GRABAR et al., 1960; HEIDE et al., 1964). Dem Hämopexin wird die Funktion zugeschrieben, im Serum auftretendes Häm in aus der Zirkulation zu eliminieren. Bei hämolytischen Anämien kommt es zu einer Verminderung oder zum vorübergehenden Verschwinden dieses Glykoproteins aus dem Serum (NEALE et al., 1958; MÜLLER-EBERHARD u. CLEVE, 1963).

Methoden

Die quantitative immunologische Bestimmung der Serumglykoproteine erfolgte mit der radialen Immunodiffusion im Agargel nach MANCINI und Mitarbeitern (1963). Eine ausführliche Arbeitsvorschrift wurde in einer vorangegangenen Veröffentlichung gegeben (CLEVE, 1966).

1. Bestimmung des sauren α_1 -Glykoproteins: Als Antiserum wurde das Kaninchen-Antiserum Op. Nr. 658 der Behring-Werke Marburg verwendet. Zur Aufstellung der Eichkurve wurde eine Präparation von hochgradig gereinigtem sauren α_1 -Glykoprotein benutzt (Op. Nr. 231161), die uns von den Behring-Werken zur Verfügung gestellt wurde. Das gefriergetrocknete Protein wurde auf der Analysenwaage sorgfältig eingewogen und durch Auflösen in 0.9% iger NaCl eine Stammlösung hergestellt. Mit physiolog. Kochsalzlösung wurden sodann für die Eichkurve acht ver-

schiedene Verdünnungsstufen des Antigens zubereitet.

2. Bestimmung der gruppen-spezifischen Komponente (Gc): Es gelangten mehrere von uns hergestellte Anti-Gc-Seren vom Kaninchen zur Verwendung (CLEVE u. DENCKER, 1966). Zur Immunisierung diente eine gereinigte Gc-Präparation, die aus einem Pool mehrerer Normalseren gewonnen wurde und eine Mischung aus den verschiedenen genetischen Gc-Typen, Gc 1-1, Gc 2-1 und Gc 2-2, darstellte. Die Antiseren enthielten außer dem Anti-Gc-Antikörper mehrere Antikörper gegen weitere α_1 - und α_2 -Globuline mit niedrigerem Titer. Bei den gewählten Antiserumverdünnungen stellte sich in der radialen Immundiffusion im Agargel lediglich ein Anti-Gc-Präzipitat dar, dessen Identität durch eine immunologische Identitätsreaktion mit einem gereinigten Gc-Präparat sichergestellt wurde. Zur Aufstellung der Eichkurve wurde als Antigen eine hochgradig gereinigte Gc-Präparation verwendet. Diese war aus einem Pool von Normalseren gewonnen worden und ließ bei der elektrophoretischen Reinheitsprüfung in der Polyacrylamid-gelelektrophorese Kontaminanten nicht erkennen (CLEVE und DENCKER, 1966). Die Eiweißkonzentration der Gc-Stammlösung wurde mit der Folin-Methode bestimmt, als Standardkurve diente eine mit Humanalbumin „reinst“, Behring-Werke aufgestellte Eichkurve. Durch Verdünnen mit physiologischer Kochsalzlösung wurden mehrere Verdünnungsstufen zubereitet, mit deren Hilfe Eichkurven für die verschiedenen Antiseren angefertigt wurden.

3. Bestimmung des α_2 -Makroglobulins: Es wurde das Antiserum der Behring-Werke Marburg Op. Nr. 976 Z verwendet. Zur Aufstellung der Eichkurve benutzten wir als Antigen eine 2%ige Lösung eines α_2 -Makroglobulin-Präparates der Behring-Werke (Op. Nr. 23364), von der acht verschiedene Verdünnungsstufen hergestellt wurden. Die Eichkurve wurde kontrolliert mit vier verschiedenen Verdünnungsstufen eines Standard-Humanserums der Behring-Werke (Op. Nr. 166 L), dessen Makroglobulin-Serumkonzentration vom Hersteller mit 120 mg% angegeben wurde. Die beiden Eichkurven deckten sich.

4. Bestimmung des Hämopexins: Es wurde das Anti-Hämopexin-Antiserum, Op. Nr. 825 B, der Behring-Werke Marburg verwendet. Die Eichkurve wurde mit einem Human-Standardserum (Op. Nr. 166 L) der Behring-Werke Marburg aufgestellt, dessen Hämopexin-Konzentration vom Hersteller mit 55 mg% angegeben wurde.

Krankengut und Material

Es wurden die Seren von insgesamt 300 Diabetikern untersucht. Es handelte sich um Patienten der Diabetiker-Sprechstunde der Med. Univ.-Poliklinik Marburg (Lahn), die die Sprechstunde ambulant zur Kontrolluntersuchung aufsuchten. In der Mehrzahl der Fälle war der Diabetes mellitus befriedigend eingestellt;

Seren von stoffwechsel-dekompensierten Kranken im Stadium der Ketose oder des Coma diabeticum blieben von der Untersuchung ausgeschlossen. Blut wurde durch Punktion der Cubitalvene entnommen. Mit Ausnahme der insulinbehandelten Patienten, bei denen die Blutzuckerbestimmung postprandial erfolgte, waren die Probanden nüchtern. Die Seren wurden nach Absetzen des Blutkuchens abzentrifugiert und bis zur Untersuchung bei -15°C eingefroren aufbewahrt.

Die Stichprobe wurde nach verschiedenen Gesichtspunkten unterteilt und analysiert:

A. Einer Gruppe von Diabetikern mit später Manifestation der Stoffwechselstörung wurden jugendliche Diabetiker gegenübergestellt:

1. Altersdiabetiker: Diese Gruppe bilden Patienten, deren Diabetes nach dem 60. Lebensjahr manifest geworden war.
2. Jugendliche Diabetiker: In dieser Gruppe sind 5 Patienten zwischen dem 17. und 26. Lebensjahr zusammengefaßt.

B. Nach der Behandlungsart erfolgte eine Unterteilung der Diabetiker-Stichprobe in folgende drei Gruppen:

1. Diabetiker mit ausschließlich diätetischer Behandlung.
2. Diabetiker, die diätetisch und mit oralen Antidiabetica behandelt wurden.
3. Diabetiker, die mit Diät und Insulin oder mit Diät, Insulin und zusätzlich mit einem oralen Antidiabeticum (Biguanide) eingestellt waren.

Diabetiker, deren Behandlungsart kurzfristig vor der Blutentnahme geändert worden war, wurden nicht berücksichtigt.

C. Die Beurteilung der Schwere einer Gefäßschädigung bei Diabetes stützte sich auf eine klinische und elektrokardiographische Untersuchung sowie eine eingehende angiologische Befunderhebung, wie sie an anderen Orten ausführlich dargestellt wurde (ALEXANDER et al., 1967). Sie schloß eine oscillographische und lichtplethysmographische Untersuchung der peripheren Arterien der oberen und unteren Extremitäten ein.

Zur Bestimmung der Elastizität peripherer Arterien zogen wir die photoelektrische Reflexplethysmographie nach DITTMAR u. Mitarb. (1961) heran. Dabei teilten wir die über den Daumen- und Großzehenendgliedern gewonnenen Pulscurven nach der von LAX u. Mitarb. (1956) bzw. OTTO u. MAUREN (1963) geübten Klassifizierung ein in Pulsationen mit ausgeprägter (I), abgeflachter (II), angedeuteter (III) und fehlender (IV) Dikrotie. Bei Ausschluß einer Vasospastik ist zunehmende Abflachung der Pulswellendikrotie Ausdruck zunehmender Sklerosierung der zuführenden Arterien. Vasospastische Einflüsse, die zur Abflachung der Dikrotie führen, können leicht an einer nach oben konvexbogigen Verformung des abfallenden Kurvenschenkels erkannt werden. Solche Pulscurven blieben ebenso wie Plethysmogramme, die nicht eindeutig zu klassifizieren waren, unberücksichtigt.

Folgende Klassen wurden unterschieden (Abb. 1):

1. Diabetiker ohne nachweisbare Arteriosklerose (Kurventyp I)
2. Diabetiker mit beginnender Arteriosklerose (Kurventyp II)
3. Diabetiker mit mittelschwerer Arteriosklerose (Kurventyp III)
4. Diabetiker mit schwerer Arteriosklerose (Kurventyp IV)

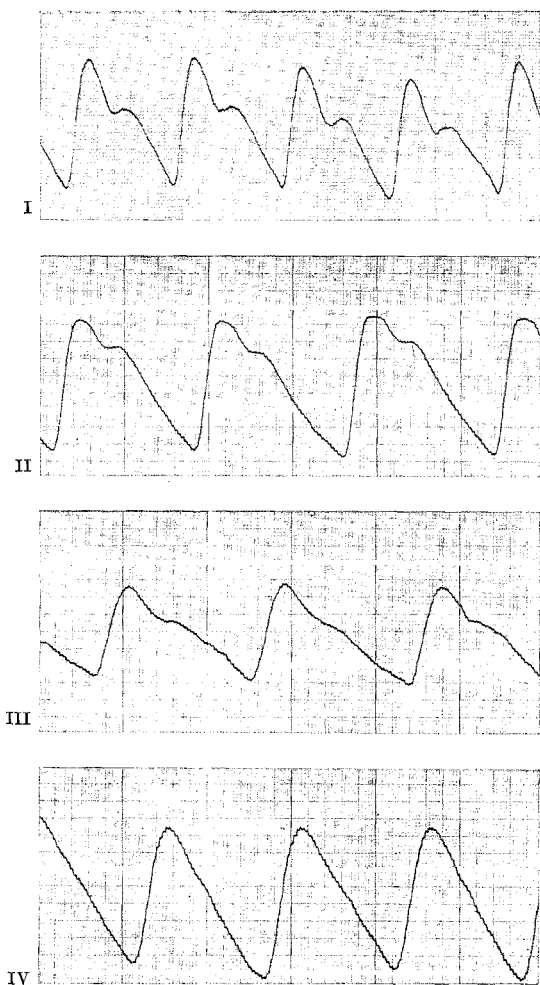


Abb. 1. Einteilung der Pulscurven nach Ausprägung der Dikrotie

5. Diabetiker mit arterieller Verschlusskrankheit
Verschlusskriterien:

- a) Pathologischer Pulstastbefund in Verbindung mit gleichsinnig veränderter Lagerungsprobe nach Ratschow oder Faustschlußprobe. Gefordert wurde zusätzlich der Nachweis von mindestens zwei der folgenden Veränderungen im
- b) Mechanischen Stufenoscillogramm: pathologischer oscillometrischer Quotient; Indexverschiebung nach rechts; einseitige Gipfelabrundung im Indexbereich.

c) Photoelektrisches Reflexplethysmogramm: seitendifferente Amplituden; sinusförmige Pulsdeformierung; anarchisches Kurvenbild; Pulswellenverspätung.

6. Diabetiker mit schwerer coronarer oder cerebraler Durchblutungsstörung; diese Gruppe umfaßte alle Patienten mit Zustand nach apoplektischem Insult sowie Diabetiker mit Zustand nach Myokardinfarkt oder elektrokardiographisch nachweisbaren Zeichen der Außenschichtschädigung.

Unter diesen Gesichtspunkten wurde die gesamte Stichprobe analysiert; getrennt betrachtet wurden nach dieser Einteilung außerdem die Diabetiker mit einem Lebensalter von weniger als 60 Jahren.

D. Die Mehrzahl der Patienten wurde auf das Vorhandensein einer Retinopathia diabetica untersucht. Nach den ophthalmologischen Befundberichten der Universitäts-Augenklinik Marburg (Direktor: Prof. Dr. W. STRAUB) wurde eine Klasseneinteilung vorgenommen in:

1. Diabetiker mit Retinopathia diabetica,
2. Diabetiker ohne Retinopathia diabetica.

Berücksichtigung fanden nur Diabetiker mit eindeutig positivem oder eindeutig negativem Befund.

E. Als nicht-diabetische Kontrollgruppe diente eine Stichprobe von 210 Blutspendern des Blutspendendienstes der Universitätsklinik Marburg (Lahn) (Leiter: Dr. K. H. MÜLLER).

Tabelle 1. Konzentrationen von saurem α_1 -Glykoprotein im Serum bei Diabetes mellitus

Stichprobe	n	\bar{x} in mg %	s in mg %
Kontrolle (Blutspender)	199	106	28
Diabetiker	270	118	37
Jugendliche Diabetiker	5	111	48
Altersdiabetiker	78	123	39
Behandlung mit Insulin	68	123	49
Behandlung mit peroralem Antidiabetikum	173	116	30
Behandlung mit Diät	24	119	44
D. ohne nachweisbare Arteriosklerose	1	110	—
D. mit beginnender A.	13	108	38
D. mit mittelschwerer A.	57	123	48
D. mit schwerer A.	63	119	33
D. mit arterieller Verschlusskrankheit	27	118	29
D. mit coronarer oder cerebraler Arteriosklerose	20	118	22
D. ohne Retinopathie	142	116	32
D. mit Retinopathie	45	123	50

n = Anzahl, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung
D. = Diabetiker, A. = Arteriosklerose

Ergebnisse

Saures α_1 -Glykoprotein

Die Ergebnisse der quantitativen immunologischen Bestimmung des sauren α_1 -Glykoproteins sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. In einer größeren nicht-

diabetischen Kontrollgruppe (Blutspender) fand sich ein Mittelwert von 106 mg% mit einer Standardabweichung von ± 28 mg%, Geschlechts- oder Altersabhängige Unterschiede konnten nicht festgestellt werden (CLEVE, 1966). Der Mittelwert in einer Stichprobe von 270 Patienten mit Diabetes mellitus lag mit 118 mg% nur wenig höher, die Streuung und Standardabweichung waren in der Diabetiker-Stichprobe etwas größer als in der nichtdiabetischen Kontrolle. Die größere Streuung und Standardabweichung in der Diabetiker-Gruppe wird durch eine Anzahl von Patienten bedingt, die deutlich erhöhte Serum-Konzentrationen von saurem α_1 -Glykoprotein aufwiesen; 13 der 270 Patienten hatten Werte von über 180 mg%. Es handelte sich dabei vornehmlich um ältere Patienten mit infektiösen Komplikationen. Wie Tabelle 1 zeigt, sind die Serumkonzentrationen dieses Glykoproteins unabhängig vom Bestehen einer diabetischen Retinopathie oder vom Ausmaß der arteriosklerotischen Veränderungen der peripheren Arterien. Auch die Behandlungsart, die in sehr grober Annäherung die Schwere der diabetischen Stoffwechselstörung reflektiert, ist ohne Einfluß auf die Konzentration von saurem α_1 -Glykoprotein.

Tabelle 2. Konzentrationen der gruppenspezifischen Komponente (Gc) im Serum bei Diabetes mellitus

Stichprobe	n	\bar{x} in mg %	s in mg %
Kontrolle (Blutspender)	209	39.9	5.4
Gc 1-1	107	41.6	5.8
Gc 2-1	72	38.0	3.6
Gc 2-2	26	34.7	3.8
Diabetiker	291	45.4	7.1
Gc 1-1	169	48.3	6.3
Gc 2-1	102	41.7	6.1
Gc 2-2	14	38.5	5.5
Jugendliche Diabetiker	5	48.4	8.1
Altersdiabetiker	85	48.0	7.6
Behandlung mit Insulin	73	45.5	7.9
Behandlung mit peroralem Antidiabetikum	183	45.4	6.9
Behandlung mit Diät	24	46.0	6.5
D. ohne nachweisbare Arteriosklerose	1	39.5	—
D. mit beginnender A.	13	47.2	7.4
D. mit mittelschwerer A.	58	46.4	8.5
D. mit schwerer A.	64	45.8	6.5
D. mit arterieller Verschlußkrankheit	30	45.1	6.5
D. mit coronarer oder cerebraler Arteriosklerose	23	44.5	7.0
D. ohne Retinopathie	145	45.4	7.4
D. mit Retinopathie	46	45.7	7.5

n = Anzahl, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung
D. = Diabetiker, A. = Arteriosklerose

Gruppen-spezifische Komponenten (Gc)

Die Konzentration dieses Proteins beträgt im normalen Serum etwa 40 mg%, Geschlechts- oder Altersunterschiede sind nicht nachzuweisen (CLEVE und DENCKER, 1966). Bemerkenswert sind geringfügige

Unterschiede der Serum-Konzentrationen dieses Proteins bei den verschiedenen genetischen Typen. Wenn sich auch die Meßwerte der drei genetischen Gruppen überlagern, so sind die Abweichungen der Mittelwerte der drei Gruppen statistisch hochsignifikant (CLEVE und DENCKER, 1966). Die Gc-Konzentration ist beim Typ Gc 1-1 durchschnittlich höher als beim Typ Gc 2-1 und beim Typ Gc 2-1 durchschnittlich höher als beim Typ Gc 2-2. Wie die Tabelle 2 zeigt, finden sich diese vom Gc-Genotyp abhängigen geringen Konzentrationsunterschiede auch bei Diabetikern. Außerdem liegt der Mittelwert der Stichprobe von 291 Diabetikern mit rund 45 mg% etwas höher als der Mittelwert einer nicht-diabetischen Kontrollgruppe. Diese geringfügige Anhebung der Gc-Serumkonzentrationen ist in allen analysierten Diabetiker-Stichproben nachzuweisen. Eine Beziehung zum Manifestationsalter des Diabetes, zur Behandlungsart, zur Ausprägung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen oder zu einer diabetischen Mikroangiopathie besteht nicht. 25 der 291 Diabetes-Patienten haben Gc-Konzentrationen von 55 mg% und mehr, 6 dieser 25 Patienten haben Gc-Konzentrationen von 60 mg% und mehr. Die Auswertung der Krankenblattunterlagen ergab keinerlei Hinweis, um diesen leichten Konzentrationsanstieg deuten zu können.

α_2 -Makroglobulin

Die Konzentration des α_2 -Makroglobulins wurde im Serum von 98 gesunden Blutspendern bestimmt (Tabelle 3). Es fand sich in dieser Stichprobe ein Mittel-

Tabelle 3. α_2 -Makroglobulin-Konzentrationen im Serum von nicht-diabetischen Blutspendern Alters- und Geschlechtsverteilung

Stichprobe	n	\bar{x} in mg %	s ²	s in mg %
Blutspender	98	186	1974.5	44
Geschlecht:				
♂	72	182	1963.6	44
♀	21	198	2355.0	49
Alter (Jahre):				
20-29	52	198	2268.7	48
30-39	17	160	853.3	29
40-49	12	182	1531.7	39
50-59	6	174	1316.8	36
60-69	5	178	2399.2	49

n = Anzahl, \bar{x} = Mittelwert, s² = Streuung, s = Standardabweichung

wert von 186 mg% und eine Standardabweichung von ± 44 mg%. Statistisch signifikante Abweichungen in Abhängigkeit vom Alter waren nicht nachzuweisen. Ein etwas höherer Mittelwert von 198 mg% fand sich in der Altersgruppe der 20-29jährigen. Frauen haben etwas höhere Werte als Männer. In der Tabelle 4 sind die Ergebnisse der Bestimmung des α_2 -Makroglobulins bei 276 Patienten mit Diabetes mellitus zusammengefaßt. In der Stichprobe der Diabetiker findet sich ein

Mittelwert von 242 mg%. Die Serumkonzentration des α_2 -Makroglobulins liegt demnach bei Diabetikern um durchschnittlich etwa 60 mg% höher als bei nicht-diabetischen Blutspendern, was einer Erhöhung um 30% des Normwertes entspricht. Dieser Unterschied ist statistisch hochsignifikant (Tabelle 4). Die Diabetiker-Stichprobe weist auch eine größere Streuung und Standardabweichung auf als die Kontrollgruppe. Wie die graphische Darstellung der einzelnen Bestimmungen bei gesunden Blutspendern und bei Diabetikern in Abb. 2

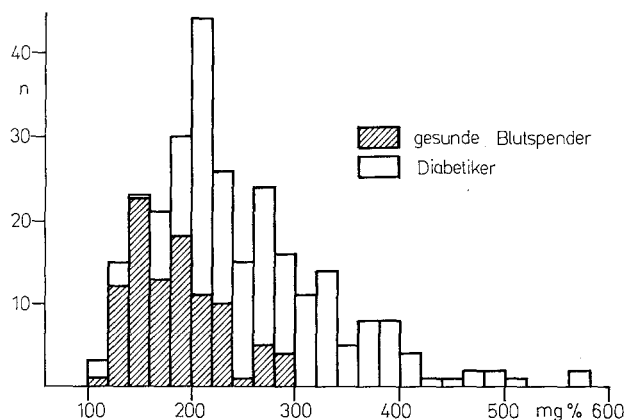


Abb. 2. α_2 -Makroglobulin Konzentrationen im Serum von gesunden Blutspendern und von Patienten mit Diabetes mellitus. Verteilung der einzelnen Meßwerte

Tabelle 4. α_2 -Makroglobulin-Konzentrationen im Serum bei Diabetes mellitus

Stichprobe	n	\bar{x} in mg %	s in mg %
Kontrolle (Blutspender)	98	186	44
Diabetiker	276	242	84
Jugendliche Diabetiker	5	302	105
Altersdiabetiker	109	269	88
Behandlung mit Insulin	72	250	79
Behandlung mit peroralem Antidiabetikum	177	241	86
Behandlung mit Diät	23	228	85
D. mit beginnender A.	13	207	65
D. mit mittelschwerer A.	80	218	85
D. mit schwerer A.	64	255	77
D. mit arterieller Verschlusskrankheit	28	273	80
D. mit coronarer oder cerebraler Arteriosklerose	21	242	73
D. ohne Retinopathie	142	238	78
D. mit Retinopathie	45	273	93

n = Anzahl, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung
D. = Diabetiker, A. = Arteriosklerose

Statistische Auswertung:

- 1) t-Test für Kontrolle/Diabetiker: $t_{(372)} = 6,28, 2P < 0,001$ ($t_{(200)} = 3,34, 2P = 0,001$)
- 2) Varianzanalyse für Beh. m. Ins./peror. Anti-Diab./Diät: $F = 1,53, (F_{100,2} = 19,5, P = 0,05)$
- 3) Varianzanalyse für beg. A./schw. A./AVK/cor. + cerebr. A.: $F = 3,86 (F_{4,200} = 3,41, P = 0,01)$
- 4) t-Test für D. ohne Retinopathie/D. m. Retinopathie: $t_{(185)} = 2,505 (t_{(185)} = 2,346, P = 0,02)$

zeigt, überlagern sich die Meßwerte der beiden Stichproben kontinuierlich. Es ist nicht möglich, bei den Diabetikern zwei distinkte Klassen zu unterscheiden. Bei 58 von 276 Diabetikern finden sich α_2 -Makroglobulin-Konzentrationen von mehr als 300 mg%, eine Konzentration, die bei den 98 Blutspendern der Kontrollgruppe nicht beobachtet wurde. Die weitere Analyse der Erhöhung der Serumkonzentration des α_2 -Makroglobulins (Tabelle 4) ergibt vier bemerkenswerte Resultate: 1. Die α_2 -Makroglobulinvermehrung ist bei Patienten mit diabetischer Retinopathie besonders ausgeprägt, jedoch auch bei Diabetikern ohne Retinopathie ist der Anstieg dieses Glykoproteins festzustellen. 2. Es findet sich eine Beziehung zwischen dem Konzentrationsanstieg des α_2 -Makroglobulins und dem Schweregrad der Arteriosklerose der peripheren Gefäße: Der Anstieg ist um so ausgeprägter, je schwerer die peripheren Arterien arteriosklerotisch verändert sind. Statistisch sind die Unterschiede in den verschiedenen Klassen signifikant. 3. Bei einer sehr kleinen Zahl von jugendlichen Diabetikern findet sich bereits eine deutliche Vermehrung dieses Glykoproteins. 4. Eine eindeutige Beziehung zur Behandlungsart besteht nicht. Bei Insulin-behandelten Diabetikern ist die α_2 -Makroglobulin-Serum-Konzentration nicht statistisch signifikant höher als bei Diabetikern, die ohne Insulin behandelt wurden. Eine eindeutige Beziehung zur Dauer der Erkrankung konnte nicht festgestellt werden, auf eine tabellarische Darstellung dieser Auswertung wurde verzichtet. Jedoch ist der Zusammenhang zwischen dem α_2 -Makroglobulinanstieg und dem Ausmaß der Arteriosklerose der peripheren Arterien weniger eindeutig, wenn die Diabetiker mit einer relativ frühzeitigen Manifestation der Arteriosklerose getrennt betrachtet werden (Tabelle 5). In Tabelle 5 wurden alle Diabetiker analysiert, die jünger als 60 Jahre alt waren: die Mittelwerte für die α_2 -Makroglobulinkonzentrationen liegen in einigen Gruppen niedriger als bei der entsprechenden Auswertung der Diabetiker-Gesamt-Stichprobe. Außerdem findet sich nicht der gleichmäßige Anstieg der α_2 -Makroglobulin-Konzentration mit zunehmendem Schweregrad der Arteriosklerose.

Hämopexin

Die Serumkonzentration des Hämopexins wurde bei einer nur kleinen Stichprobe gesunder, nicht-diabetischer Blutspender bestimmt (Tabelle 6). Der Mittelwert betrug 77 mg% bei einer Standardabweichung von ± 8 mg%. Bei Diabetikern finden sich etwas höhere Serumkonzentrationen; der Mittelwert in der Diabetiker-Stichprobe beträgt 92 mg% bei einer Standardabweichung von ± 13 mg%. Bei der statistischen Auswertung (Tabelle 6) ist dieser relativ geringe Unterschied bereits hoch-signifikant. Die Auswertung der Diabetiker-Stichprobe nach den genannten verschiedenen Gesichtspunkten läßt Unterschiede der Hämopexin-Serum-Konzentrationen in den verschiedenen Gruppen nicht erkennen.

Diskussion

Die vorliegende Untersuchung zeigt eine Vermehrung des α_2 -Makroglobulins im Serum von Diabetikern. Dieses Glykoprotein ist gegenüber gesunden, nicht-diabetischen Blutspendern bei Diabetikern um durchschnittlich etwa 60 mg% erhöht, entsprechend

die peripheren Gefäße betroffen sind, um so deutlicher ist die α_2 -Makroglobulinvermehrung. Bei Diabetikern unter 60 Jahren hat sich ein derartig eindeutiger Zusammenhang allerdings nicht zeigen lassen. Eine patho-physiologische Erklärung dieses Befundes kann noch nicht gegeben werden. Es ist unwahrscheinlich, daß die α_2 -Makroglobulinvermehrung durch renalen

Tabelle 5. Serumglykoproteine und frühzeitige Manifestation einer Arteriosklerose der peripheren Arterien bei Diabetikern

Stichprobe	saures α_1 -Glykoprotein			Gc			α_2 -Makroglobulin			Hämopexin		
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s
Diabetiker mit beginnender Arteriosklerose	12	106	39	12	46	7	12	212	65	11	86	15
D. mit mittelschwerer A.	48	120	45	48	47	9	46	193	67	39	91	13
D. mit schwerer A.	24	132	36	24	47	5	24	219	65	19	96	17
D. mit arterieller Verschußkrankheit	3	115	13	3	45	6	3	209	38	2	95	10
D. mit coronarer oder cerebraler Arteriosklerose	7	126	19	9	45	5	7	248	45	6	103	9

n = Anzahl, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung
D. = Diabetiker, A. = Arteriosklerose

Tabelle 6. Hämopexin-Konzentrationen im Serum bei Diabetes mellitus

Stichprobe	n	\bar{x}	s
Kontrolle (Blutspender)	15	77	8
Diabetiker	243	92	13
Jugendliche Diabetiker	5	83	8
Altersdiabetiker	95	93	13
Behandlung mit Insulin	62	95	16
Behandlung mit peroralem Antidiabetikum	158	91	12
Behandlung mit Diät	18	93	13
D. mit beginnender A.	12	86	15
D. mit mittelschwerer A.	68	91	12
D. mit schwerer A.	52	94	16
D. mit arterieller Verschußkrankheit	27	94	13
D. mit coronarer oder cerebraler Arteriosklerose	18	95	16
D. ohne Retinopathie	124	92	14
D. mit Retinopathie	42	94	14

n = Anzahl, \bar{x} = Mittelwert, s = Standardabweichung
D. = Diabetiker, A. = Arteriosklerose

Statistische Auswertung:

t-Test für Kontrolle/Diabetiker: $t_{(256)} = 4.167$, $2 P < 0.001$ ($t_{(200)} = 3.34$, $2 P = 0.001$)

einem Anstieg von etwa 30% des Normwertes. Diese Vermehrung ist besonders bei Diabetikern mit Retinopathia diabetica, aber auch bei Patienten ohne Retinopathie nachzuweisen. Außerdem besteht eine Beziehung zum Schweregrad der arteriosklerotischen Veränderungen der peripheren Arterien; je schwerer

Eiweißverlust bei Nierenläsion bedingt ist. Beim nephrotischen Syndrom kommt es zu einer beträchtlichen Erhöhung der α_2 -Makroglobulin-Konzentration im Serum. Sie wird durch eine Akkumulation dieses Makroglobulins bewirkt, da die niedermolekularen Serumproteine durch die geschädigte Glomerulmembran bevorzugt ausgeschieden werden und kontinuierlich im Harn verloren gehen (PETERKOFKY et al. 1956; CLEVE et al., 1957). Die Auswertung unseres Materials ergab keinen Zusammenhang zwischen dem Nachweis einer Proteinurie und der α_2 -Makroglobulinvermehrung. Wenig wahrscheinlich ist auch ein Zusammenhang zwischen α_2 -Makroglobulinvermehrung und Insulin-Behandlung, woran wegen der Bindungskapazität von α_2 -Makroglobulin für Insulin gedacht werden muß (KALLEE et al., 1963). Die α_2 -Makroglobulinvermehrung ist bei Diabetikern nachzuweisen unabhängig davon, ob sie mit Insulin behandelt werden oder nicht. Offen bleiben muß auch die Frage, ob mit dem Nachweis der α_2 -Makroglobulinvermehrung der mit globalen Untersuchungsmethoden gefundene Anstieg der Serumglykoproteine vollständig charakterisiert ist, oder ob noch weitere, von uns nicht bestimmte Serumglykoproteine bei Diabetikern vermehrt sein können. Immerhin ist bemerkenswert, daß das saure α_1 -Glykoprotein, welches bei Patienten mit Entzündungen und Neoplasien erheblich vermehrt sein kann, bei Diabetikern nur unwesentlich vermehrt im Serum auftritt. Auch die gruppen-spezifischen Komponenten und das Hämopexin waren bei unserer Diabetiker-Stichprobe nur wenig vermehrt. Allerdings ist der leichte Konzentrationsanstieg des Hämopexins gegenüber den Meßwerten einer sehr kleinen Stich-

probe von nicht-diabetischen Blutspendern bereits statistisch signifikant. Weitere Untersuchungen werden sich mit der Vermehrung des α_2 -Makroglobulins beim Diabetes mellitus zu befassen haben. Es ist zu hoffen, daß die Einführung der quantitativen immunologischen Bestimmung einzelner Serumproteine quantitative Variationen bei pathologischen Prozessen aufdecken hilft und zur Aufklärung der Funktion dieser Substanzen bei Kranken und bei Gesunden beiträgt.

Literatur

- ALEXANDER, K., P. NISSEN, H. J. MITZKAT u. F. HARTMANN: Der angiologische Status eines ambulanten diabetischen Krankengutes. *Arch. Klin. Med.*, **213**, 173-196 (1967).
- BISERTE, G., R. HAVAZ, A. HAYEM et J. LATURAZE: Isolement du séroumucoïde β_1 (β_1 -A-globuline). Etude de son pouvoir de liaison avec les chromoprotéïdes. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **250**, 418-420 (1960).
- CLEVE, H.: Die gruppenspezifische Komponente des menschlichen Serums. Heidelberg: Hüthig 1965.
- CLEVE, H.: Quantitative immunologische Bestimmung von saurem α_1 -Glykoprotein und α_1 -Antitrypsin; Serumkonzentration bei gesunden Blutspendern. *Klin. Wschr.* **44**, 1256-1260 (1966).
- , und H. DENCKER: Quantitative variations of the group-specific component (Gc) and the barium- α_2 -glycoprotein of human serum in health and disease. *Proc. XIVth Coll. Prot. Biol. Fluids, Brügge, H. PEETERS, Ed. p. 379-384. Amsterdam, Elsevier, 1966.*
- F. HARTMANN u. R. RITTER: Immunoelktrophoretische und immuchemische Untersuchungen beim nephrotischen Syndrom. *Dtsch. Arch. klin. Med.* **204**, 393-408 (1957).
- J. H. PRUNIER, and A. G. BEARN: Isolation and partial characterization of the two principal inherited group-specific components of human serum. *J. exp. Med.* **118**, 711-726 (1963).
- DITTMAR, H., R. HILD u. E. NUSSE: Ein photoelektrischer Reflexplethysmograph für klinische Routineuntersuchungen. *Z. Kreisl.-Forsch.* **50**, 373-377 (1961).
- DORFMAN, A.: Mucopolysaccharide changes in diabetes. In: *Diabetes*, R. H. WILLIAMS, Ed., p. 159-168. New York: Hoeber, 1960.
- GRABAR, P., CH. DE VAUX-ST. CYR et H. CLEVE: Présence de β_1 B-globuline dans les extraits perchloriques de sérums humains normaux. *Bull. Soc. Chim. biol. (Paris)* **42**, 853-856 (1960).
- HEIDE, K., H. HAUPT, K. STÖRIKO, and H. E. SCHULTZE: On the heme-binding capacity of hemopexin. *Clin. chim. Acta*, **10**, 460-469 (1964).
- HIRSCHFELD, J.: Immune-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. *Acta path. microbiol. scand.* **47**, 160-168 (1959).
- The Gc-system. Immuno-electrophoretic studies of normal human sera with special reference to a new genetically determined serum system (Gc). *Progr. Allergy* **6**, 155-186 (1962).
- KALLEE, E., S. DEBIASI, and A. D'ADDABBO: Studies on 131 I-labeled insulin. VI. Immunological experiments on the binding of 131 I-insulin to serum proteins of normal, analbuminemic, and insulin-treated subjects. *Acta isotop. (Padova)* **3**, 239-268 (1963).
- LAX, H., A. W. FEINBERG u. B. M. COHEN: Studies of the arterial pulse wave. *J. chron. Dis.* **3**, 618-631 (1956).
- MANCINI, G., J.-P. VAERMAN, A. O. CARBONARA, and J. F. HEREMANS: A single radial diffusion method for the immunological quantitation of proteins. *Proc. XIth Coll. Prot. Biol. Fluids, Brügge, 1963. H. PEETERS, Ed. p. 370-373. Amsterdam: Elsevier, 1964.*
- MÜLLER-EBERHARD, U., u. H. CLEVE: Immunoelktrophoretic studies of the β_1 -haeme-binding globulin (Haemopexin) in hereditary haemolytic disorders. *Nature* **197**, 602-603 (1963).
- NEALE, F. C., G. M. ABER, and G. E. NORTHAM: The demonstration of intravascular haemolysis by means of paper electrophoresis and a modification of Schumm's reaction. *J. clin. Path.* **11**, 206-213 (1958).
- OTTO, H., u. A. MAUREN: Zur Frage prädiabetischer Befunde am Gefäßsystem. In: *Fortschr. f. Diabetesforschung*. OBERDISSE, K., und JAHNKE, K., Hrsg., S. 164-167. Stuttgart: Georg Thieme, 1963.
- PETERKOFOSKY, A., L. LEVINE, and R. K. BROWN: Quantitative estimation of antigens by complement fixation. Studies on the heat-labile alpha-2-glycoprotein. *J. Immunol.* **76**, 237-242 (1956).
- SCHÖNENBERGER, M., R. SCHMIDTBERGER u. H. E. SCHULTZE: Über das α_2 -Makroglobulin. *Z. Naturforsch.* **13b**, 761-772 (1958).
- SCHULTZE, H. E., I. GÖLLNER, K. HEIDE, M. SCHÖNENBERGER u. G. SCHWICK: Zur Kenntnis der α -Globuline des menschlichen Normalserums. *Z. Naturforsch.* **10b**, 463-473 (1955).
- K. HEIDE u. H. HAUPT: Charakterisierung von hochgereinigtem Hämopexin. *Naturwissenschaften* **48**, 696-697 (1961).
- N. HEIMBURGER, K. HEIDE, H. HAUPT, K. STÖRIKO, and H. G. SCHWICK: Preparation and characterization of α_1 -Trypsin inhibitor and α_2 -plasmin inhibitor of human serum. *Proc. 9th Congr. Europ. Soc. Haemat., Lissabon, 1963*, p. 1315-1320, Basel - New York: S. Karger 1963.
- , and J. F. HEREMANS: Molecular biology of human proteins, vol. 1. Amsterdam: Elsevier 1966.
- STÖRIKO, K.: Immunologische Methoden zur Bestimmung von Plasmaproteinen. *Ärztl. Laborat.* **11**, 189-197 (1965).
- WEIMER, H. E., J. W. MEHL, and R. J. WINZLER: Studies on the mucoproteins of human plasma. V. Isolation and characterization of a homogeneous protein. *J. biol. Chem.* **185**, 561-568 (1950).
- WINZLER, R. J.: Glycoproteins. In: F. W. PUTNAM, *The Plasma Proteins*, vol. I, p. 309. New York - London: Academic Press 1960.
- Plasma glycoproteins and mucopolysaccharides. In: *Small Blood Vessel Involvement in Diabetes Mellitus*. M. D. SIFERSTEIN, A. R. COLWELL, and K. MEYER, Eds. p. 235-242. Washington, Amer. Inst. Biol. Sciences 1964.

Doz. Dr. med. H. CLEVE
Institut für Humangenetik
Philipps-Universität Marburg
Marburg a. d. Lahn,
Robert-Koch-Str. 7