

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin IV

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H.-U. Häring

**"Regulation der Lipolyse im Fett- und im
Muskelgewebe – Bedeutung für die Pathogenese
der Insulinresistenz. Klinische Untersuchungen
mit der Mikrodialyse."**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität zu
Tübingen

vorgelegt von Bastian Hauer
aus Bad Säckingen

2003

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Privatdozent Dr. S. Jacob

2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. F. Schick

Diese Arbeit ist meinen drei Brüdern

Sascha, Benjamin und Johannes

gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	7
1.1	BEDEUTUNG DES TYP 2 DIABETES MELLITUS	7
1.2	PATHOGENESE DES TYP 2 DIABETES MELLITUS	8
1.2.1	INSULINSEKRETION	9
1.2.2	PHYSIOLOGISCHE INSULINWIRKUNG	9
1.2.3	VON DER INSULINRESISTENZ ZUM MANIFESTEN DIABETES	11
1.2.4	BEDEUTUNG DES ÜBERGEWICHTES UND DER FETTVERTEILUNG	12
1.2.5	BEDEUTUNG DER FREIEN FETTSÄUREN	13
1.2.6	MUSKULÄRES FETT	14
1.3	ZIEL DER STUDIE	16
2	<u>MATERIAL UND METHODIK</u>	18
2.1	BESCHREIBUNG DER STUDIENTEILNEHMER	18
2.2	ETHIK	19
2.3	ANGEWANDTE METHODEN IM TÜFF-PROJEKT	19
2.3.1	ORALER GLUKOSE TOLERANZTEST	19
2.3.2	ISOGLYKÄMISCHER HYPERINSULINÄMISCHER GLUKOSE-CLAMP	19
2.3.3	BODY MASS INDEX (BMI)	20
2.3.4	WAIST TO HIP RATIO (WHR)	21
2.3.5	LEAN BODY MASS (LBM) UND KÖRPERFETT (KF%)	21
2.4	ANGEWANDTE METHODEN DER VORLIEGENDEN STUDIE	22
2.4.1	3-STUFEN HYPERINSULINÄMISCHER ISOGLYKÄMISCHER GLUKOSE-CLAMP	22
2.4.2	MIKRODIALYSE	22
2.4.3	KOMBINATION DER UNTERSUCHUNGSTECHNIKEN	27
2.5	STUDIENPROTOKOLL	28
2.5.1	VORBEREITUNGEN	28
2.5.2	MESSUNG DER ANTILIPOLYSE	28
2.5.3	POST-CLAMP-PHASE	29
2.6	ANALYTISCHE METHODEN	30

2.6.1	BESTIMMUNG DER SERUMWERTE	30
2.6.2	BESTIMMUNG DER SUBSTRATE AUS DEM FETT- UND MUSKELGEWEBE	31
2.7	AUSWERTUNG	31
2.7.1	GESAMTGRUPPE	31
2.7.2	EINTEILUNG IN INSULINSENSIBEL UND --RESISTENT DER GESAMTGRUPPE	32
2.7.3	"MATCHED PAIRS" DER INSULINSENSIBLEN UND --RESISTENTEN SUBGRUPPEN	32
2.7.4	BERECHNUNG DER MITTELWERTE	32
2.7.5	STATISTISCHE AUSWERTUNG	32
3	ERGEBNISSE	34
3.1	STUDIENKOLLEKTIV DER MIKRODIALYSE-UNTERSUCHUNG	34
3.1.1	ANTHROPOMETRISCHE DATEN DER GESAMTGRUPPE	34
3.1.2	METABOLISCHE NÜCHTERNWERTE DES GESAMTEN STUDIENKOLLEKTIVS	34
3.1.3	GEPAARTE SUBGRUPPEN	35
3.2	ERGEBNISSE DES 3-STUFEN-GLUKOSE-CLAMPS – IN KOMBINATION MIT DER MIKRODIALYSE	36
3.2.1	METABOLISCHE VERÄNDERUNGEN IN DER GESAMTGRUPPE	36
3.2.2	METABOLISCHE VERÄNDERUNGEN BEI DEN GEPAARTEN SUBGRUPPEN	40
3.3	POST-CLAMP-PHASE - EFFEKTE EINER AKUTEN REDUKTION DER HYPERINSULINÄMIE	44
3.3.1	METABOLISCHE VERÄNDERUNGEN IN DER GESAMTGRUPPE	44
3.3.2	METABOLISCHE VERÄNDERUNGEN BEI DEN GEPAARTEN GRUPPEN	45
4	DISKUSSION	49
4.1	DIE LIPOLYSE WIRD SOWOHL IM FETTGEWEBE ALS AUCH IM SKELETTMUSKEL HORMONELL FEIN REGULIERT	49
4.2	INSULINRESISTENZ DER GLUKOSEAUFNABME IST ASSOZIIERT MIT EINER INSULINRESISTENZ DER ANTILIPOLYSE	52
4.3	AKTIVIERUNG DER LIPOLYSE DURCH SINKENDE INSULINSPIEGEL NACH EINER HYPERINSULINÄMIE – POST-CLAMP-PHASE	53
4.4	LIMITIERUNG DER STUDIE	55
4.5	KLINISCHE RELEVANZ DER LIPOLYSE IM SKELETTMUSKEL	55

5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>58</u>
----------	-------------------------------	------------------

6	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>60</u>
----------	------------------------------------	------------------

1 Einleitung

1.1 Bedeutung des Typ 2 Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus Typ 2 ist ein zunehmendes Problem der westlichen Industrienationen geworden. Die Prävalenz des Typ 2 Diabetes wird hier nach epidemiologischen Studien mit 3 bis 10 % angegeben; die Zahl der Patienten mit nicht diagnostiziertem Diabetes liegt mindestens in der gleichen Größenordnung [1]. Daraus folgt, dass in der Bundesrepublik Deutschland etwa vier Millionen Menschen mit manifestem und ebenso viele mit nicht diagnostiziertem Typ 2 Diabetes leben. Gestörte Glukosetoleranz oder manifester Diabetes geht sehr häufig mit Bluthochdruck, Übergewicht und Dyslipidämie einher. Dieses Risikofaktorenmuster ist mit einem besonders hohen Risiko für arteriosklerotische kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert [2-5]. Die Morbidität und Mortalität der Diabetespatienten ist vor allem durch makrovaskuläre Veränderungen gekennzeichnet [6-10]. So weisen Diabetiker gegenüber Nicht-Diabetikern ein drei- bis vierfach höheres koronares Erkrankungs- und Sterblichkeitsrisiko auf [6,9].

Bereits zum Zeitpunkt der Diagnose, die im Mittel erst sieben Jahre nach Krankheitsbeginn gestellt wird, beträgt die Prävalenz der Koronaren Herzerkrankung etwa 50%, sind ca. 80% der Patienten nach den neuen Hypertonie-Klassifikationen als Hypertoniker einzustufen, ausserdem weisen über 3/4 aller Diabetiker eine Hyper- oder Dyslipidämie und ebenso viele ein Übergewicht auf [3,11,12].

Daraus folgt, dass die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen bei Typ 2 Diabetikern offenbar in der prädiabetischen Phase stattfindet und nicht erst durch die Hyperglykämie induziert wird. Es wird vermutet, dass in der prädiabetischen normoglykämischen Phase erhöhte Insulinspiegel [3,13] eine wesentliche Bedeutung für die Pathogenese der makrovaskulären Veränderungen besitzen und demnach als kardiovaskuläre Risikofaktoren anzusehen sind [2,3,14,15]. Diese prädiabetische Phase ist durch das metabolische Syndrom charakterisiert, bei dem Übergewicht mit androider

Fettverteilung, essentielle Hypertonie, Dyslipoproteinämie mit erniedrigtem High-Density-Lipoprotein und Hypertriglyzeridämie, Hyperurikämie und/oder die gestörte Glukosetoleranz gemeinsam auftreten [16].

Als Schlüsselfaktor und gemeinsame Grundlage des metabolischen Syndroms, des Typ 2 Diabetes und der Atherosklerose wird zunehmend die Insulinresistenz anerkannt. Diese Resistenz ist durch eine verminderte insulin-stimulierte Glukoseaufnahme in die Muskulatur gekennzeichnet. Die Insulinresistenz der Glukoseaufnahme wird nicht nur bei Patienten mit Diabetes mellitus, sondern auch bei einem Grossteil der essentiellen Hypertoniker, bei Adipositas sowie zusätzlich auch bei asymptomatischen Nachkommen von Typ 2 Diabetikern gefunden [11,17-19]. Demnach lässt sich diese Insulinresistenz bei einem beträchtlichen Teil der europäischen Bevölkerung zeigen.

1.2 Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus

Zwei Hauptmechanismen spielen für die Entstehung des Typ 2 Diabetes eine wesentliche Rolle: Eine Störung der quantitativen und qualitativen Insulin-Sekretion des Pankreas einerseits und andererseits eine verminderte Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme des Skelettmuskels, aber auch eine Insulinresistenz des Fettgewebes und der Leber [20,21].

Ursachen dieser Insulinwirkungsstörung sind prinzipiell in allen Teilschritten zwischen der pankreatischen Sekretion und dem Effekt des Hormons am Zielorgan denkbar. Man geht heute davon aus, dass die verminderte Wirkung von Insulin bei Diabetes mellitus, aber auch bei Adipositas, bei Hypertonie und bei Verwandten ersten Grades von Typ 2 Diabetikern nicht an einer gestörten Bindung an den Rezeptor liegt, sondern es wird vielmehr ein Postrezeptor-Defekt postuliert [3,22].

Desweiteren scheint auch die Insulinwirkung auf die endothelabhängige Vasodilatation und konsekutiv auf die Perfusion der Muskulatur vermindert zu sein [23].

Den Circulus vitiosus der Insulinresistenz vereinfacht dargestellt, zeigt die Abbildung 1-1. Die Hyperinsulinämie induziert dabei eine verminderte

Signaltransduktion als post-Rezeptor-Defekt [24], welche konsekutiv die muskuläre Glukoseaufnahme herabsetzt und somit die Insulinresistenz verstärkt.

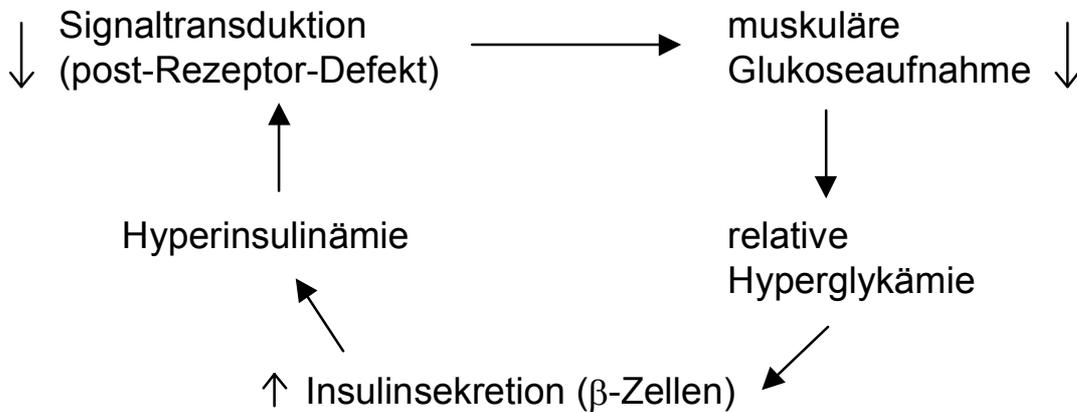


Abbildung 1-1: *Circulus vitiosus der Insulinresistenz (IR)*

Aber abgesehen von seltenen genetischen Defekten, wie zum Beispiel die Acanthosis nigricans oder das Leprechaunismus-Syndrom, welche zur Insulinresistenz führen, sind die exakten Ursachen und Mechanismen der metabolischen Störung noch nicht endgültig geklärt.

1.2.1 Insulinsekretion

Bei der Diagnose oder der Erstmanifestation eines Typ 2 Diabetes ist die Insulin-Sekretion, besonders die erste Phase, deutlich vermindert [22,25]. Aber auch bei gesunden, normoglykämischen Personen oder bei Übergewichtigen wird eine Störung der Insulin-Sekretion beschrieben [26,27].

1.2.2 Physiologische Insulinwirkung

Insulin besitzt als Hormon verschiedene Effekte, wovon die Wichtigsten für den Glukose-, Lipid- und Proteinstoffwechsel in der Abbildung 1-2 dargestellt werden.

Zudem senkt Insulin die Glukoneogenese in der Leber und in der Niere. Als weiteres Beispiel hat Insulin am Gefäßendothel einen vasodilatatorischen Einfluss.

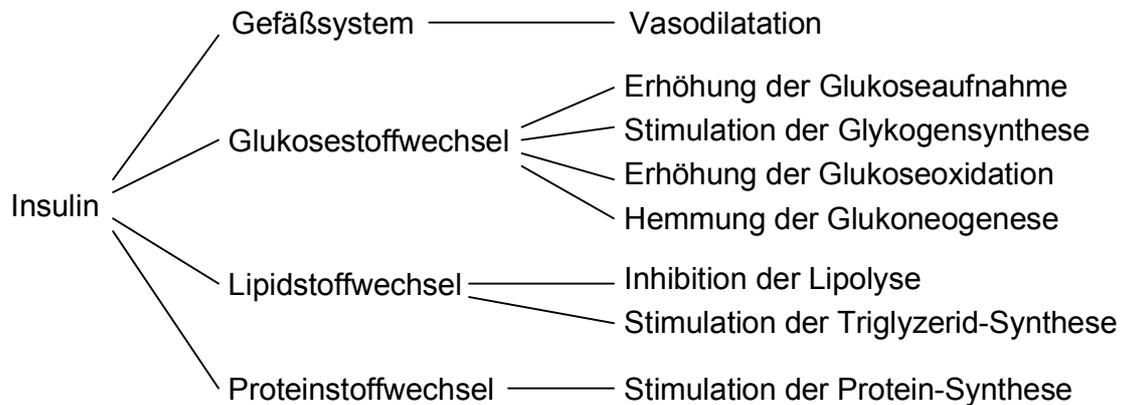


Abbildung 1-2: Effekte der Insulinwirkung

1.2.2.1 Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme

Bei Typ 2 Diabetikern und auch bei normoglykämischen prädiabetischen Personen ist die insulin-vermittelte Glukoseaufnahme in den Skelettmuskel reduziert [12,16,25,28]. Dies wird als Insulinresistenz der Glukoseaufnahme bezeichnet.

Insulinresistenz ist somit definiert als eine subnormale biologische Antwort auf Insulin und der daraus resultierenden verminderten Insulinwirkung und bedeutet hier konventionell eine verminderte Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme.

Mit Hilfe des euglykämischen hyperinsulinämischen Glukose-Clamps [29] kann dies dargestellt werden. Der von DeFronzo et al. [30] beschriebene und als Goldstandard angesehene Clamp quantifiziert im wesentlichen die insulin-vermittelte Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur. Der Vorteil besteht hierbei in Steady-State Bedingungen mit konstanten Insulin- und Glukosespiegeln im Serum.

Es werden dabei hohe, supraphysiologische Insulinkonzentrationen über zwei Stunden eingestellt.

Da mit dem Glukose-Clamp nur eine Aussage über die Gesamt-Körper-Glukoseaufnahme gemacht werden kann, lassen sich die Stoffwechselfvorgänge der einzelnen Zellen mit dieser Methode nicht beschreiben.

1.2.2.2 Insulinsensitivität der Antilipolyse

Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes aber auch bei Patienten mit einer Insulinresistenz der Glukoseaufnahme ist die Inhibition der Lipolyse durch Insulin vermindert und wird als Insulinresistenz der Antilipolyse bezeichnet. Dies konnte schon für kleinste Mengen an Insulin gezeigt werden [31].

Während eines euglykämischen hyperinsulinämischen Glukose-Clamps wird durch die supraphysiologischen Insulinspiegel im Serum die Lipolyse fast vollständig supprimiert.

Daher lag das Interesse in der Entwicklung eines 3-Stufen-Glukose-Clamps mit einer sehr niedrigen Insulin-Anfangsdosis, um die Inhibition der Lipolyse erfassen und die Insulinresistenz der Antilipolyse quantifizieren zu können. Dabei gibt die Menge der Freien Fettsäuren im Serum im Steady-State einer Stufe im Glukose-Clamp die Insulinsensitivität der Antilipolyse an.

Die niedrigen Insulindosierungen in der 1. und 2. Stufe, bei nur geringer Verwertung von Glukose entsprechen mehr der Physiologie als supraphysiologische Insulinspiegel mit entsprechend hoher Glukoseaufnahme im Standard-Glukose-Clamp.

1.2.3 Von der Insulinresistenz zum manifesten Diabetes

Vor der Manifestation des Diabetes mellitus, der sogenannten prädiabetischen, normoglykämische Phase, ist die Insulinwirkung bereits vermindert; diese kann aber durch eine reaktive Hyperinsulinämie kompensiert werden.

Es wird heute vermutet, dass zu diesem Zeitpunkt die insulin-stimulierte Glukoseaufnahme, besonders des Muskels, ausgeprägt reduziert ist [12,28,39]. Heute geht man davon aus, dass erst wenn eine Störung der

Sekretion hinzukommt (Verlust der 1. Phase), die Blutzuckerwerte ansteigen und ein manifester Diabetes resultiert.

Epidemiologische Studien zeigen, dass bereits bei normoglykämischen Risikopatienten für Diabetes mellitus, wie zum Beispiel Verwandte ersten Grades von Typ 2 Diabetikern die Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme herabgesetzt ist [12,26].

Kommen zu einer genetischen Vorbelastung weitere Faktoren, wie Inaktivität, Fehlernährung und Adipositas hinzu, dann steigt das Risiko für die Manifestation des Diabetes mellitus (s. Abb. 1-3).

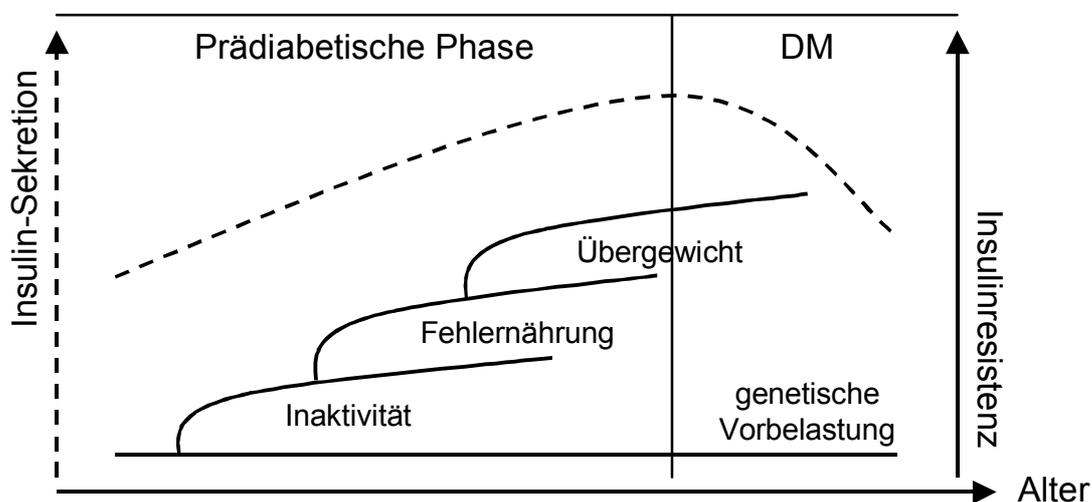


Abbildung 1-3: Entwicklung des Diabetes mellitus (DM)

1.2.4 Bedeutung des Übergewichtes und der Fettverteilung

Übergewicht verschlechtert die Insulinsensitivität (s. Abb. 1-3); dies ist aber durch erfolgreiche Gewichtsreduktion reversibel [40,41]. So korreliert vor allem die Körper-Fett-Masse eng mit der Insulinsensitivität, wie epidemiologische Studien zeigen konnten [42,43].

Weiterhin spielt die Fettverteilung eine besondere Rolle: Eine Vermehrung des viszeralen Fettgewebes wirkt sich viel ungünstiger auf die Insulinsensitivität aus

als eine Vermehrung des subkutanen Unterhautfettgewebes [44]. Bei einer mehr viszeralen, androiden Fettverteilung, besonders wenn kombiniert mit Übergewicht, findet sich eine deutlich erhöhte Inzidenz von Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes [42,43].

Man vermutet heute, dass mit steigendem Body-Mass-Index die FFS im Serum erhöht sind, welche sich dann wiederum negativ, durch Hemmung des Glukosetransportes in die Muskelzelle, auf die Insulinsensitivität und den Typ 2 Diabetes auswirken.

1.2.5 Bedeutung der Freien Fettsäuren

Bei Typ 2 Diabetikern und gesunden Personen mit Insulinresistenz lassen sich erhöhte Plasmaspiegel an Freien Fettsäuren (FFS) messen [45-49]. Auch bei einem oralen Glukose Toleranztest oder einem hyperinsulinämischen Glukose-Clamp werden die FFS in dieser Gruppe nicht adäquat supprimiert [47,50]. Epidemiologischen Untersuchungen zufolge weisen die erhöhten FFS bei Personen mit normaler Glukosetoleranz auf ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes hin [45,51].

Die Hemmung der Lipolyse durch Insulin scheint bei Typ 2 Diabetikern und bei Nicht-Diabetikern mit Insulinresistenz gestört zu sein; das heisst, dass die Lipolyse durch physiologische Insulinspiegel nicht mehr adäquat supprimiert werden kann und demnach eine Insulinresistenz der Antilipolyse vorliegt [17,47,52,53].

Die Bedeutung der Lipolyse und der FFS, die als mögliche Mechanismen für die Pathogenese diskutiert werden, ist aber noch nicht eindeutig geklärt. Bisher wurde davon ausgegangen, dass die im Plasma erhöhten Spiegel der FFS das Resultat einer vermehrten Lipolyse im Fettgewebe sind [54].

Daher nimmt man heute an, dass eine im "Organ Fettgewebe" lokalisierte Regulationsstörung, nämlich einer verminderten insulin-vermittelten Antilipolyse einerseits und zum Beispiel einer gesteigerten sympatho-adrenerg vermittelten Lipolyse-Sensitivität andererseits, zu der im Plasma nachweisbaren Erhöhung der Freien Fettsäuren führt. Diese Störung induziert dann im Skelettmuskel aufgrund einer Substrat-Kompetition eine vermehrte Lipidoxidation und

konsekutiv eine verminderte Glukoseaufnahme [54-62] (s. Abb. 1-4). Diese kompetitive Hemmung wird als "Randle Mechanismus" beschrieben [54]. Weiterhin haben die vermehrten FFS eine inhibitorische Wirkung auf den Glukosetransport im Skelettmuskel und durch eine Erhöhung der FFS wird die Glukoneogenese in der Leber aktiviert.

Allerdings haben bisherige Studien nur eine relativ schwache Korrelation zwischen Serumwerten der FFS und dem Ausmass der Insulinresistenz gegeben [63], so dass dieser oben genannte Mechanismus die Störung der Insulinsensitivität nicht hinreichend erklärt.

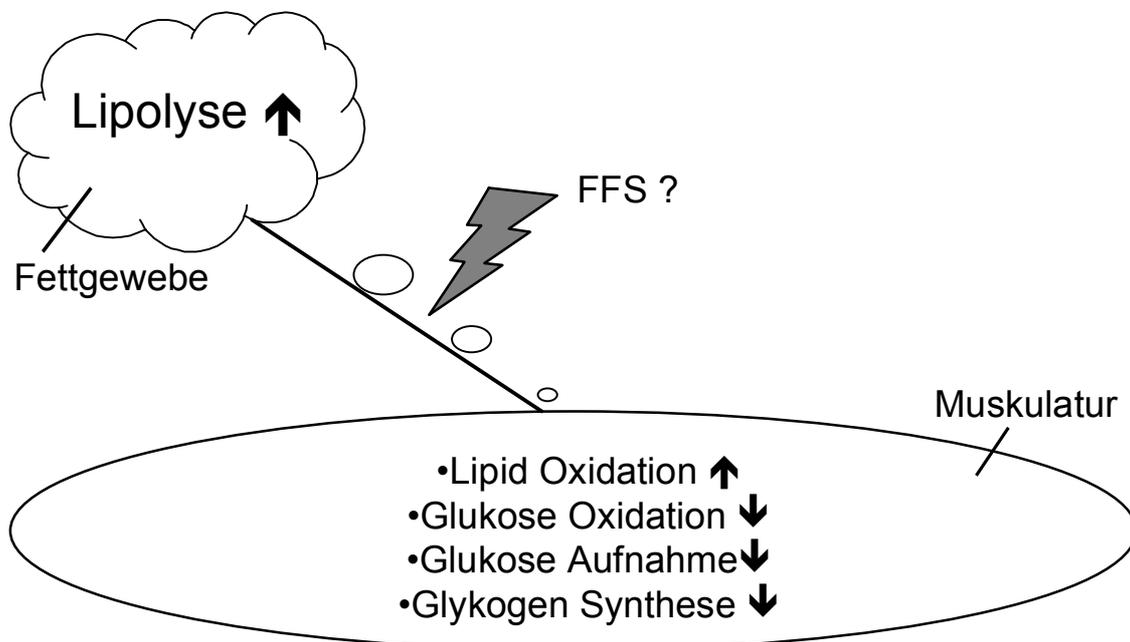


Abbildung 1-4: "Cross talk" zwischen Fett- und Muskelgewebe

1.2.6 Muskuläres Fett

In den letzten Jahren ergaben sich Hinweise dafür, dass neben den subkutan und viszeral gelegenen Fettdepots auch intramuskulär gelegene Lipide existieren, die in der Pathogenese der Insulinresistenz eine Rolle spielen könnten.

Der Skelettmuskel ist das Hauptorgan für die postprandiale Glukoseaufnahme [25,64]. Diabetes und Insulinresistenz sind durch eine verringerte insulin-stimulierte Glukoseaufnahme besonders an der Muskelzelle gekennzeichnet.

Mehrere Arbeitsgruppen untersuchten den Zusammenhang zwischen Fettaufnahme, muskulär gelegenen Lipiden und Insulinsensitivität. Diese experimentellen Studien fanden bei Ratten eine deutliche Reduktion der Insulinsensitivität unter einer fettreichen Diät im Vergleich zu reiner Kohlenhydratnahrung [65-68]. Dabei konnte eine Erhöhung der muskulären Fette bei den mit Fett diätetisch behandelten Ratten festgestellt werden [65,66].

Epidemiologische Daten zeigen einen engen Zusammenhang zwischen der vermehrten Fettaufnahme und der Entwicklung einer Insulinresistenz bzw. des Typ 2 Diabetes mellitus [69].

Andererseits hat die Rückkehr der Aborigines in Australien von einer fettreichen, zu ihrer traditionellen, faserreichen und fettarmen Kost, die Störungen im Lipid- und Kohlenhydratstoffwechsel deutlich verbessert [70].

Falholt beschrieb 1987 eine deutlich vermehrte Lipideinlagerung in Biopsien des M. rectus abd. von Patienten mit Typ 2 Diabetes im Vergleich zu Gesunden [71]. Eine erhöhte intramuskuläre Triglyzeridakkumulation war auch bei nicht-diabetischen Patienten mit Koronarer-Herz-Erkrankung zu verzeichnen [72], einer Patientengruppe, die häufig durch eine ausgeprägte Insulinresistenz auffällt [11,17,73]. In allen diesen Gruppen liessen sich auch deutlich erhöhte lipogenetische Enzymaktivitäten in der Muskelbiopsie nachweisen. Diese Ergebnisse wurden über längere Zeit wenig beachtet oder als nicht relevant für die Pathogenese der Insulinresistenz angesehen.

Erst in der letzten Zeit wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen mit Hilfe von Muskelbiopsien oder CT gezeigt [74-76], dass nicht-diabetische Personen mit verminderter Insulinsensitivität einen erhöhten Pool an intramuskulärem Fett aufweisen. Sowohl bei Pima-Indianern, als auch bei post-menopausalen Frauen

bestanden klare und statistisch unabhängige Zusammenhänge zwischen den Parametern der Insulinresistenz und den intramuskulären Triglyzeriden. Allerdings ist die Methodik der Muskelbiopsie schlecht reproduzierbar [77]. Ausserdem erlauben die bisher benutzten Techniken keine exakte morphologische Zuordnung der intramuskulären Lipide. Es ist daher unklar, ob diese bisher beschriebenen muskulären Triglyzeride direkt in dem Zytoplasma der Muskelzelle liegen, d.h. intramyozellulär (IMCL), oder zwischen den Muskelfasern, d.h. extramyozellulär (EMCL) angeordnet sind und damit zwischen den Muskelfasern angeordneten Adipozyten entsprechen würden.

1.3 Ziel der Studie

Die gegenwärtige Datenlage gibt Hinweise, dass Diabetiker im Vergleich zu Gesunden mehr muskuläres Fett aufweisen [71]. Auch sind bei nicht-diabetischen Personen mit Insulinresistenz vermehrt muskuläre Lipide nachweisbar [74-76]. Demnach könnte man vermuten, dass die Insulinresistenz mit dem Fett in der Muskulatur korreliert und die muskulären Lipide eine Rolle in der Pathogenese der Insulinresistenz spielen.

Auch wurden bisher keine Erkenntnisse gewonnen, ob diese Lipide sich am Stoffwechsel beteiligen und wenn ja, wie sie reguliert werden.

Es ist denkbar, dass durch eine Störung dieser Regulation, die intramuskulären Lipiddepots vermehrt FFS generieren.

So könnten zum Beispiel eine verminderte insulin-vermittelte Antilipolyse oder eine vermehrte stress-induzierte Lipolyse über eine Erhöhung der FFS im Zytosol mit dem Glukosestoffwechsel im Skelettmuskel interferieren und so die Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme vermindern (s.o.).

Deshalb soll daher der Frage nachgegangen werden, ob und wie diese intramuskulär gelegenen Fette reguliert werden. Dazu wird die Methodik der Mikrodialyse (s. Methodik) eingesetzt, die es ermöglicht, den Stoffwechsel bestimmter Substrate in verschiedenen Geweben zu untersuchen. Bislang wurde die Mikrodialyse vor allem benutzt, um Einblicke in die Regulation der

Lipolyse im Fettgewebe zu erhalten. In der vorliegenden Arbeit wird nun mit Hilfe der Mikrodialyse die Lipolyse im Fett-, und besonders im Muskelgewebe unter definierten Bedingungen (3-Stufen-Glukose-Clamp) untersucht.

Folgende Fragestellungen sind von Interesse:

- Lässt sich im Skelettmuskel Glyzerol als ein Endprodukt der Lipolyse nachweisen und ist dies hormonell reguliert ?
- Welche Unterschiede gibt es in der Regulation der Lipolyse zwischen den Kompartimenten Serum, Fettgewebe und Skelettmuskulatur ?
- Wie verhält sich die Lipolyse während eines Drei-Stufen isoglykämischen hyperinsulinämischer Glukose-Clamps ?
Wie stark ist die insulin-stimulierte Antilipolyse in den einzelnen Kompartimenten ausgeprägt – Insulinsensitivität der Antilipolyse?
- Wie verhält sich die Lipolyse in den Kompartimenten nach Beendigung des Drei-Stufen-Clamps, wenn die zirkulierenden Insulinspiegel akut abfallen ?
Im Sinne einer akuten Dis-Inhibition der Lipolyse.

Weiterhin sollte untersucht werden:

- Bestehen Unterschiede zwischen Fett- und Muskelgewebe hinsichtlich der Insulinsensitivität der Antilipolyse ?
- Existieren Unterschiede in der Regulation der Lipolyse bei Personen mit Insulinresistenz im Vergleich zu insulinsensiblen Personen ?

2 Material und Methodik

2.1 Beschreibung der Studienteilnehmer

Alle Probanden wurden aus dem Tübinger Familien Früherfassung Projekt (TÜFF-Projekt) rekrutiert. Dieses Projekt ist eine gross angelegte prospektive Studie und untersucht gesunde Verwandte ersten Grades von Typ 2 Diabetikern hinsichtlich des Glukosestoffwechsels sowie Risikobegleitfaktoren [26].

Die Studienteilnehmer des TÜFF-Projektes wurden anthropometrisch, laborchemisch und metabolisch charakterisiert. Hierzu gehört:

- der orale Glukose Toleranztest mit der Messung der Insulinspiegel, die dem Ausschluss eines manifesten Diabetes und der Einteilung in gestörte und normale Glukosetoleranz dient (WHO Kriterien) und die Insulinsekretion erfasst.
- die Erfassung der Körperzusammensetzung (Body-Impedanz-Analyse; BIA)
- die 24 Stunden Blutdruckmessung.
- die Untersuchung der körperlichen Fitness mit Hilfe der Spiroergometrie und Bestimmung der VO_2 max.
- die indirekte Kalorimetrie.
- die Bestimmung umfangreicher Laborparameter und gegebenenfalls eine genetische DNA-Untersuchung zur Identifizierung von Polymorphismen.
- weiter ein umfangreicher Fragebogen.
- Zusätzlich die Quantifizierung der Insulinsensitivität mit Hilfe des isoglykämischen hyperinsulinämischen Glukose-Clamps.

Somit wurden zunächst in der Arbeit untersuchten Personen in ihrer Insulinsensitivität umfangreich charakterisiert.

Da Hinweise bestehen, dass eine Hyperglykämie per se eine Insulinresistenz induzieren kann, wurden Personen mit manifestem Diabetes in der Studie ausgeschlossen [24,78].

Davon nahmen insgesamt 24 gesunde Personen mit unauffälligem oralen Glukose Toleranztest an der vorliegenden Studie teil. Ausser Kontrazeptiva waren keine Medikationen erlaubt.

2.2 Ethik

Die Probanden nahmen freiwillig an der Studie teil. Sie waren über die potentiellen Risiken der gesamten Untersuchung informiert und hatten ihr schriftliches Einverständnis abgegeben.

Es lag das positive Votum der Ethikkommission der Universität Tübingen vor.

2.3 Angewandte Methoden im TÜFF-Projekt

2.3.1 Oraler Glukose Toleranztest

Unter standardisierter Vorbereitung wird zu Beginn des Tests ein peripherer Venenkatheter in eine Unterarmvene gelegt. Anschliessend trinken die Probanden eine wässrige Lösung mit 40g Glukose/m² Körperoberfläche innerhalb von 5 Minuten.

Die Blutentnahmen erfolgen vor dem Test zur Bestimmung der Basalwerte und danach zu den Minuten 15, 30, 45, 60, 90 und 120. Analysiert werden die Konzentrationen für Glukose, Freien Fettsäuren, Insulin, Pro-Insulin und C-Peptid.

2.3.2 Isoglykämischer hyperinsulinämischer Glukose-Clamp

Die Untersuchung wird unter standardisierten Bedingungen nach einer zwölfstündigen nächtlichen Fastenperiode durchgeführt. Es werden zwei periphere Venenkatheter (Vasofix Braunüle, Braun, Melsungen) plziert; einen in eine Vene der Ellenbeuge, für die Infusion von Insulin und Glukose und die andere retrograd in den kontralateralen Handrücken, für die Blutentnahmen. Anschliessend wird zur Arterialisierung des Blutes die Hand mit einem Heizkissen (Heated Hand) erwärmt.

Blutentnahmen erfolgen alle 5 Minuten für Glukose und alle 20 Minuten für Insulin, Glycerol und Freie Fettsäuren.

Nach initialen Blutentnahmen und einem definierten Insulinbolus über 9 Minuten Dauer wird über eine Präzisionspumpe (Braun, Melsungen) 2 Stunden lang kontinuierlich intravenös Insulin (Insulin H, Hoechst, Frankfurt) verabreicht. Bei dem Glukose-Clamp werden $1,0\text{mU/kg}\cdot\text{min}$ gegeben, um hochphysiologische Serumwerte für Insulin zu erreichen.

Gemäss der alle 5 Minuten gemessenen Plasmaglukose wird mit der variablen Infusion einer 40%-igen Glukoselösung die initiale Glukosekonzentration innerhalb eines Zielbereichs von $\pm 10\%$ konstant gehalten. Unter Gleichgewichtsbedingungen entspricht die zur Aufrechterhaltung der Isoglykämie erforderliche infundierte Glukose der Glukose-Aufnahme in die Skelettmuskulatur.

Dies setzt eine weitgehende Unterdrückung der hepatischen Glukose-Produktion, welche bei dem im Standard Glukose-Clamp erreichten Insulinspiegeln zu über 95% erfolgt ist, voraus [79]. Gleichgewichtsbedingungen werden angenommen, wenn nach einer Mindest-Clampdauer von 60 Minuten und konstanter Glukose-Infusions-Rate innerhalb von 30 Minuten die Variation der Plasmaglukose 10% nicht überschreitet.

Zur Berechnung der Insulinsensitivität dient die Glukose-Infusions-Rate (GIR), welche aus der infundierten Glukose in mg pro kg Körpergewicht (KG) im Steady-State angegeben wird ($\text{GIR} = \text{Glukose}/\text{KG}\cdot\text{min}$). Die Metabolic-Clearance-Rate (MCR) für Glukose, als ein weiteres Mass der Insulinsensitivität, erhält man indem die Steady-State Plasmawerte für Glukose und Insulin im Verhältnis zur Glukose-Infusions-Rate gesetzt werden ($\text{MCR} = \text{GIR}\cdot 100/\text{Serumglukose}$) [29,80].

2.3.3 Body Mass Index (BMI)

Der BMI wird mit der Formel Körpergewicht (KG) dividiert durch das Quadrat der Körperlänge (KL) berechnet [81].

$$\rightarrow \text{KG} / \text{KL}^2 = \text{BMI} \quad [\text{kg}/\text{m}^2]$$

2.3.4 Waist to Hip Ratio (WHR)

Der Taillenumfang wird nach den WHO Kriterien [82] zwischen der untersten Rippe und dem oberen Rand der Spina iliaca gemessen. Der Hüftumfang wird an der weitesten Stelle der Glutealregion gemessen. Beide Messungen finden im Stehen statt.

→ Taillenumfang in cm / Hüftumfang in cm = WHR

2.3.5 Lean Body Mass (LBM) und Körperfett (KF%)

Beide Untersuchungen werden mit Hilfe der bio-elektrischen Impedanzanalyse (BIA 101, BIL System, Detroit, Michigan, USA) berechnet. Bei dieser Methode wird der elektrische Wechselstromwiderstand im Körper gemessen. Dabei wird ein Wechselstrom mit 50 kHz und eine Stromstärke von 800 mA an den Körper angelegt. Der Wassergehalt des Körpers ist bei Gesunden weitgehend von Alter und Geschlecht unabhängig und verhält sich umgekehrt proportional zum Widerstand. Das Fettgewebe besitzt einen niedrigen Wassergehalt und hat daher einen hohen elektrischen Widerstand. Die fettfreie Körpermasse ist dagegen reich an Wasser. Der angelegte Strom fließt aufgrund des Weges des geringsten Widerstandes hauptsächlich durch die fettfreie Körpermasse.

Die Messung bezieht sich fast ausschliesslich auf das Wasser im Körper. Durch Regression lässt sich daraus die fettfreie Masse und die Fettmasse errechnen.

Messvorgang:

Es werden am liegenden Probanden zwei Elektroden an einem Fuss angelegt. Die distale Elektrode wird über den Zehenwurzeln II und III und die proximale Elektrode an der Vorderseite in Höhe der tibialen und fibularen Malleole befestigt. Zwei weitere Elektroden werden distal über den Fingerwurzeln in Verlängerung des Mittelfingers und proximal am plantaren Handgelenk platziert. Der Elektrodenabstand soll jeweils mindestens eine Handbreite betragen.

Der Stromeintritt erfolgt am Fuss, der Spannungsabfall tritt an den Handgelenkselektroden auf. Die Stromleitung ist zum Volumen und zur Länge

des zu untersuchenden Probanden linear. Die Beziehung $(\text{Körpergrösse})^2 / \text{Widerstand}$ korreliert gut zu Standardmethoden.

2.4 Angewandte Methoden der vorliegenden Studie

2.4.1 3-Stufen hyperinsulinämischer isoglykämischer Glukose-Clamp

Die erste Stufe wurde mit einer Insulininfusionen, von 0,1 mU/kg*min; die zweite Stufe mit 0,25 mU/kg*min und die letzte Stufe mit der bekannten Dosierung von 1,0 mU/kg*min über jeweils 120 Minuten durchgeführt.

Da in den Stufen 1 und 2 des Glukose-Clamps keine so hohen Insulinspiegel erreicht werden, die die endogene Glukoneogenese unterdrücken, wird allgemein nur die GIR angegeben.

Die weitere Durchführung und Vorgaben entsprechen dem isoglykämischem hyperinsulinäischem Glukose-Clamp (s.2.3.2)

2.4.2 Mikrodialyse

Mit der Mikrodialyse steht in der klinischen Forschung eine Methode zur Verfügung, die es ermöglicht, Stoffwechseluntersuchungen in unterschiedlichen Geweben in vivo durchzuführen. Erstmals wurde diese Methode 1972 von Delgado et al. [32] in der tierexperimentellen Hirnforschung beschrieben. Ungerstedt et al. [33] und Lönnroth et al. [34-36] entwickelten die Mikrodialyse für den klinisch experimentellen Gebrauch weiter.

Glyzerol als ein Endprodukt der Lipolyse, welches im Fett- und Muskelgewebe nicht weiter verstoffwechselt wird, ist ein indirekt gemessener Marker für die Aktivität der Lipolyse und allgemein akzeptiert [34,37,38].

Somit erlaubt die Mikrodialyse heutzutage eine "organnahe", kontinuierliche, minimal invasive Betrachtung der Regulation des Stoffwechsels. Sie wird seit vielen Jahren bei verschiedensten Fragestellungen, wie zum Beispiel der Untersuchung des Fettgewebes eingesetzt.

Kombiniert man nun den 3-Stufen-Glukose-Clamp mit der Mikrodialyse, so lassen sich die lokale und systemische Inhibition der Antilipolyse vergleichen.

2.4.2.1 Prinzip der Mikrodialyse

Kleine, spezielle Doppellumen-Katheter werden in das zu untersuchende Gewebe, genauer den interstitiellen Raum, eingeführt und können dort über mehrere Tage liegen bleiben. Das Doppellumen-System wird mit Hilfe einer speziellen Pumpe mit einer variablen Förderleistung und einer definierten Lösung perfundiert. An der Spitze des Katheters befindet sich eine ca. 3 cm lange semipermeable Membran, über die per Dialyse die interstitielle Flüssigkeit gewonnen wird. Das Prinzip des Austausches an der Membran folgt den Gesetzen der Diffusion und des Konzentrationsausgleiches (s. Abb. 2-1). In dem gewonnenen Dialysat können mit einem Analysator Substratkonzentrationen bestimmt werden.

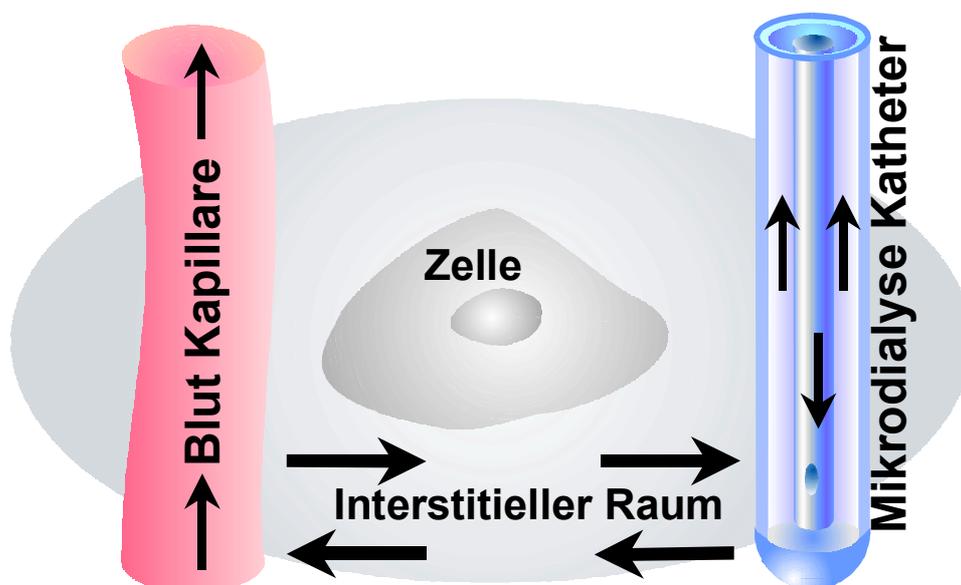


Abbildung 2-1: Prinzip der Mikrodialyse

2.4.2.2 Methoden zur Untersuchung des Gewebe-Stoffwechsels

Bisher standen folgende Möglichkeiten zur Untersuchung des Stoffwechsels im Gewebe zur Verfügung: Ex vivo konnten mit einer Biopsie, zum Beispiel im Fettgewebe, in Inkubation klar definierte Untersuchungsbedingungen geschaffen werden. Dagegen kann mit diesem Verfahren keine dynamische

Untersuchung durchgeführt werden. Andere Möglichkeiten zur Untersuchung des Stoffwechsels in Geweben sind die Messungen von arterio-venösen Differenzen und die Analysen mit Isotopen. Diese Verfahren betrachten aber im wesentlichen den Systemstoffwechsel und sind daher hinsichtlich ihrer Aussagekraft auf den Stoffwechsel im Gesamtorganismus limitiert und erlauben keinen Einblick in lokale Stoffwechselfvorgänge.

In dieser Studie wurde bei der Mikrodialyse Glycerol als Marker für die Lipolyse verwendet. Durch verschiedenste Einflussfaktoren, wie zum Beispiel die Durchblutung oder die Recovery (s.u.) lassen sich aus den gemessenen Glycerolwerten keine absoluten interstitiellen Konzentrationen ableiten. Dennoch lassen sich unter definierten Bedingungen Stoffwechselveränderungen beobachten.

2.4.2.3 Recovery

Der Begriff der "Recovery" beschreibt das Verhältnis der absoluten Konzentration im Gewebe zu der ex vivo gemessene Substratkonzentration aus dem Dialysat. Sie ist von verschiedenen Faktoren, wie der Molekülgröße, der Durchlässigkeit der Dialysemembran, der Perfusionsgeschwindigkeit und der Gewebedurchblutung abhängig.

Die Bestimmung der Recovery von Glycerol wurde in einem separaten Versuch mit [d5]Glycerol, wie von Hagström-Toft beschrieben [83], durchgeführt. Dabei wurde das Gewebe mit einer definierten Menge an [d5]Glycerol perfundiert. Die Menge von [d5]Glycerol im gewonnenen Dialysat bestimmt in Abhängigkeit der oben genannten Faktoren die Recovery und wird in Prozent der absoluten Konzentration im Gewebe angegeben [84-87].

Da die Recovery, wie aus Voruntersuchungen anderer Arbeitsgruppen hervor geht konstant ist, wird hier auf die Angaben der Absolutkonzentrationen verzichtet. Beschrieben wird vielmehr die Differenz der Konzentrationen.

Die Recovery von Glycerol wurde im Fettgewebe mit annähernd 100% gemessen und berechnet. Dagegen wurde im Skelettmuskel nur etwa 60% Recovery erreicht.

Andere Daten aus der Literatur fanden 90% Recovery des Glyzerols im Muskel [83], hier wurde allerdings statt des M. tibialis ant. der M. gastrocnemius untersucht. Hingegen stimmen die Daten für das Fettgewebe dieser Untersuchung mit vorherigen Arbeiten überein [83].

Demnach entspricht die Glyzerolkonzentration im Dialysat des Fettgewebes annähernd der Konzentration im Gewebe, während im Skelettmuskel mit den Absolutkonzentrationen aus dem Dialysat die echten Gewebekonzentrationen unterschätzt werden. Da nur die Verläufe beurteilt werden, spielt dies aber in der Studie keine Rolle.

2.4.2.4 Standardisierung der prä-experimentellen Bedingungen

Zu Beginn der Studie wurden am Morgen der Untersuchung die Mikrodialyse-Katheter in das Fettgewebe und in die Skelettmuskulatur gelegt. Erst ungefähr 3 Stunden danach erreichten die Glyzerolkonzentrationen im Dialysat des Skelettmuskels stabile Ausgangsbedingungen (s. Abb. 2-2). Wahrscheinlich führt das im Muskel gesetzte Trauma zu einer Gewebsschwellung mit einer Glyzerolfreisetzung.

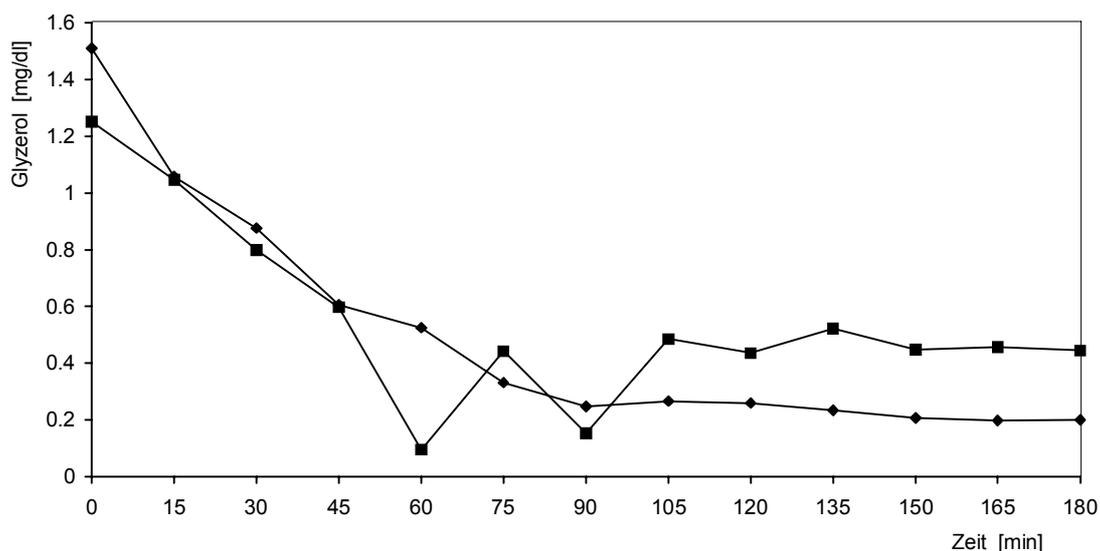


Abbildung 2-2: Traumainduzierte Erhöhung der Glyzerolspiegel bei 2 Probanden

Um standardisierte Bedingungen zu haben wurde bei allen hier untersuchten Probanden am Vorabend, d.h. 8-10 Stunden vor Beginn des Experiments der Katheter gelegt. Es war somit möglich, unter stabilen Bedingungen am Morgen die Untersuchung zu beginnen.

2.4.2.5 Messungen der Gewebedurchblutung

Die Konzentration eines Substrates im Dialysat ist von mehreren Faktoren abhängig: der Konzentration dieses Stoffes in der interstitiellen Flüssigkeit, dem Blutfluss im Gewebe sowie der Perfusionsgeschwindigkeit der Mikrodialyse-Katheter.

Mit der Ethanol-Auswasch-Technik lassen sich Veränderungen der Durchblutung beobachten [83,88-91]. Ethanol ist im Interstitium nicht vorhanden, und bei konstanter Perfusion mit einer Ethanollösung über den Mikrodialyse-Katheter ist die Konzentration von Ethanol im Dialysat nur vom Blutfluss abhängig. Die Durchblutung reguliert dabei die Geschwindigkeit mit welcher Ethanol aus dem Interstitium abtransportiert wird.

Bei dieser Methode wird dem Perfusat eine definierte Menge an Ethanol (50mM) zugegeben. Im interstitiellen Raum diffundiert Ethanol, von der Durchblutung abhängig, in den Kreislauf ab. Im Dialysat wird die restliche Ethanolkonzentration bestimmt und dann mit der Ausgangskonzentration verglichen. Als Resultat erhält man die Ethanol outflow/inflow Ratio [89-91]. Demnach kann man folgern: je stärker die Durchblutung, um so ausgeprägter ist der Abfall der Ethanolkonzentration und um so niedriger die Ratio.

Für die Bestimmung der Gewebedurchblutung im subkutanen Fettgewebe und im M. tibialis ant. wurde, auch am Abend zuvor, jeweils ein zweiter Mikrodialyse-Katheter in die Gewebe gelegt. Die Katheter wurden mit einer Perfusionsgeschwindigkeit von 3,0 µl/min (CMA 102 perfusion pump, Solna, Schweden) perfundiert. Das Perfusat war mit 50mM Ethanol angereichert.

Das über 20 Minuten in Vials gesammelte Dialysat wurde luftdicht verpackt. Zu einem späteren Zeitpunkt wurde dann die Ethanolkonzentration im Labor der Medizinischen Klinik bestimmt (s.u.).

2.4.2.6 Ablauf der Mikrodialyse

In der vorliegenden Studie wurden die Mikrodialyse-Katheter (CMA 60 microdialysis catheter, Solna, Schweden) am Abend vor der Untersuchung in das periumbilicale Fettgewebe, sowie in den M. tibialis anterior gelegt. Die lokale Hautanalgesie erfolgte mit Mepivacain. Nachdem die Haut mit einer Nadel perforiert und ein Stichkanal geschaffen war, wurde der Mikrodialyse-Katheter mit einem speziellen Applikator im Gewebe plziert. Die Katheter wurden anschliessend mit einer Ringer-Lösung gespült und dann mit Hilfe einer speziellen Pumpe (CMA 106 perfusion pump, Solna, Schweden) mit einer Perfusionsgeschwindigkeit von $0,3\mu\text{l}/\text{min}$ mit gleicher Lösung perfundiert.

Für die metabolischen Untersuchungen wurde die sehr geringe Perfusionsgeschwindigkeit von $0,3\mu\text{l}/\text{min}$ gewählt, da die Recovery der Substrate bei geringer Flussgeschwindigkeit am höchsten ist (s.o.).

Das Dialysat wurde in speziellen Vials alle 20 Minuten gesammelt. Anschliessend wurde die Glyzerolkonzentration mit einem Analysator (CMA 600 analysator, Solna, Schweden) bestimmt.

Da ein Totraumvolumen von 10 Minuten bei einer Perfusionsgeschwindigkeit von $0,3\mu\text{l}/\text{min}$ berechnet wurde, erfolgte der Vialwechsel immer 10 Minuten nach der Blutentnahme. Somit wurden die Entnahmezeiten der interstitiellen Flüssigkeit und der Blutentnahmen weitgehend synchronisiert.

2.4.3 Kombination der Untersuchungstechniken

Die Kombination der Mikrodialyse mit einem Glukose-Clamp bietet für metabolische Untersuchungen Vorteile in der Betrachtung verschiedener Gewebekompartimente unter standardisierten Bedingungen. In dieser Studie konnten somit Aussagen über die Aktivität der Lipolyse im Fettgewebe und in der Skelettmuskulatur im Vergleich zur systemischen Zirkulation gemacht werden.

Der Informationsgewinn liegt in der simultanen Beobachtung der Insulinsensitivität der Lipolyse in den Geweben und im Organismus, sowie der Gesamtkörper-Glukoseverwertung unter verschiedenen Insulinspiegeln.

2.5 Studienprotokoll

2.5.1 Vorbereitungen

Nachdem die Probanden über die Studie aufgeklärt wurden und ihre Einwilligung schriftlich abgaben, wurden am Abend die Katheter, je zwei im Skelettmuskel und im Fettgewebe gelegt. Anschliessend folgte eine Nachtruhe.

2.5.2 Messung der Antilipolyse

Am nächsten Morgen startete die Untersuchung um 8 Uhr mit dem 3-Stufen-Glukose-Clamp. In der Stunde davor wurden 3 Basalwerte der Mikrodialyse für Glyzerol und des Serums für Glyzerol, Freien Fettsäuren und Insulin bestimmt. Die Abnahmen der Metabolite erfolgte alle 20 Minuten über die gesamte Länge des Versuches und wurden, wie oben beschrieben synchronisiert.

Um 14 Uhr endete der 3-Stufen-Glukose-Clamp mit Abschalten der Insulininfusion. Eine Übersicht der kombinierten Versuchstechniken für die Messung der Antilipolyse liefert Abbildung 2-2.

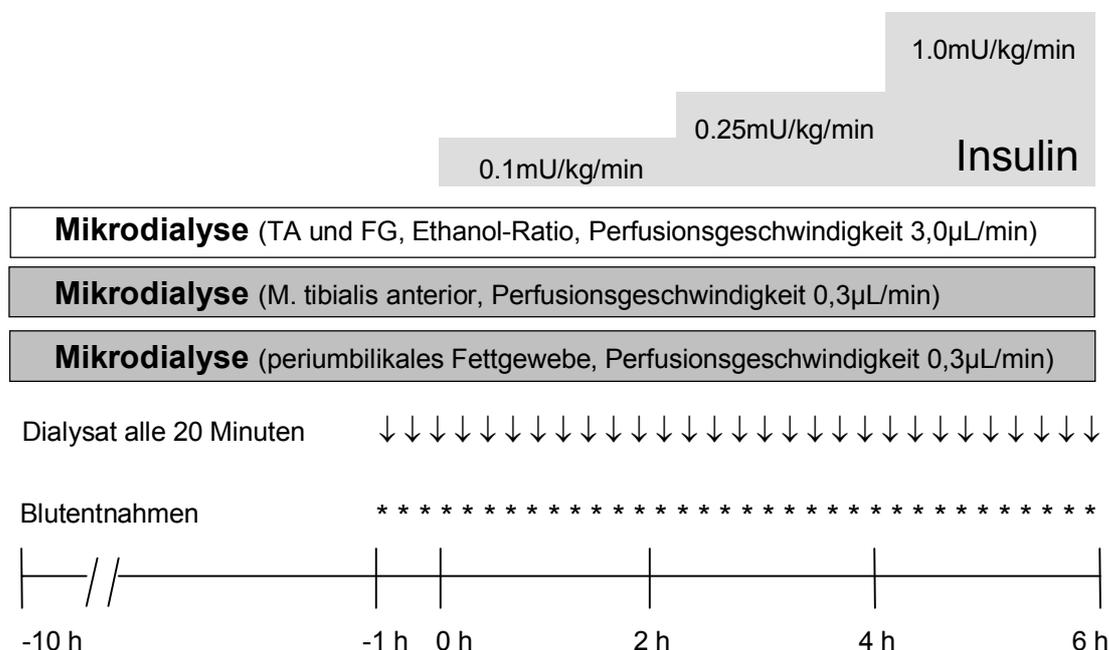


Abbildung 2-2: 3-Stufen-Glukose-Clamp mit Vorbereitungszeit. Bestimmung der Antilipolyse in den verschiedenen Kompartimenten und Messung von Durchblutungsveränderungen in Fettgewebe (FG) und in der Muskulatur (TA).

2.5.3 Post-Clamp-Phase

Das Ende des Glukose-Clamps, mit dem Ausschalten der Insulin-Perfusion, bedeutet gleichzeitig einen akuten Abfall der Insulinspiegel. Durch die nun schnell abfallenden Insulinwerte im Plasma wird die insulin-vermittelte Inhibition der Lipolyse zunehmend aufgehoben.

Um zu sehen, wie schnell die Lipolyse wieder beginnt, wurde die Dis-Inhibition der Lipolyse über 40 Minuten in der sogenannten Post-Clamp-Phase beobachtet. Der Blutzuckerspiegel wurde dabei mit einer variablen Glukoseinfusion konstant gehalten.

Gegen 15 Uhr war der Versuch beendet (s. Abb.2-3).

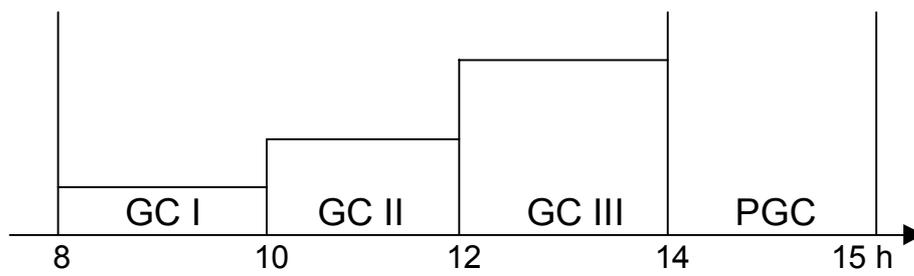


Abbildung 2-3: Verlauf des Glukose-Clamps (GC) und der Post-Clamp-Phase (PGC).

Eine Zusammenfassung der Vorbereitungen und der Versuchsabschnitte gibt die Tabelle 2-1:

1. Tag	21:00 Uhr	Aufnahme des Probanden und Legen eines peripheren Venenkatheters in eine Ellenbogenvene. Unter Lokalanästhesie plazieren der Mikrodialyse-Katheter.
	22:00 Uhr	Nachtruhe
2. Tag	07:00 Uhr	Legen eines peripheren Venenkatheters in eine Vene des Handrückens und Erwärmung der Hand (Heated Hand). Sammeln von drei Baselinewerten.
	08:00 Uhr	Start mit der ersten Stufe des isoglykämischen Glukose-Clamps mit 0,1mU/kg/min (GC I).
	10:00 Uhr	Start mit der zweiten Stufe des isoglykämischen Glukose-Clamps mit 0,25mU/kg/min (GC II).
	12:00 Uhr	Start mit der dritten Stufe des isoglykämischen Glukose-Clamps mit 1,0mU/kg/min (GC III).
	14:00 Uhr	Ende des Glukose-Clamps und Beginn der Post-Clamp-Phase (PGC).
	14:40 Uhr	Ende der Post-Clamp-Phase
	15:00 Uhr	Ende des Versuchs

Tabelle 2-1: Studienprotokoll

2.6 Analytische Methoden

2.6.1 Bestimmung der Serumwerte

Alle Analysen wurden mit kommerziell erhältlichen Methoden durchgeführt. Die Serumwerte für Glycerol (Sigma diagnostics, Deisenhofen, Deutschland), Freie Fettsäuren (WAKO Chemikalien, Neuss, Deutschland), Insulin (MEIA ABBOTT, Wiesbaden, Deutschland) und Ethanol (Colorimeter, Du Pont, Wilmington, DE, USA) wurden im Zentrallabor der Universitätskliniken Tübingen bestimmt.

Während des gesamten Glukose-Clamps wurden die Blutzuckerspiegel und die Serumlaktatwerte alle 5-10 Minuten an einem automatischen Glukoseanalysator (Glukoseoxidase Methode, YSI, Yellow Springs Instruments, Ohio, USA) bestimmt.

2.6.2 Bestimmung der Substrate aus dem Fett- und Muskelgewebe

Aus dem Dialysat (Menge 3-5µl) der Mikrodialyse wurden die Substrate Glyzerol und Glukose online, vollautomatisch, bei 546nm photometrisch analysiert (CMA 600 microdialysis analyser, Solna, Schweden). Dieses Gerät wurde uns freundlicherweise von ROCHE-Diagnostics, Mannheim zur Verfügung gestellt.

Dabei wird Glyzerol mit Adenosintriphosphat phosphoryliert und von Glyzerolkinase zu Glyzerol-3-phosphat umgesetzt. Dieses wird von der Glyzerolphosphatoxidase schrittweise oxidiert. Bei der Peroxidase-Reaktion zwischen dem dabei gebildeten Wasserstoffperoxid und 3,5-Dichloro-2-hydroxibenzenschwefelsäure sowie 4-Amino-antipyrin entsteht das rot-violette Quinonimin. Die Bildungsrate der gefärbten Substanz wird photometrisch bei 546nm gemessen und ist proportional zur Glyzerolkonzentration.

Glukose wird enzymatisch von der Glukoseoxidase oxidiert. Bei der Reaktion katalysiert die Peroxidase den dabei gebildeten Wasserstoffperoxids mit Phenol und 4-Amino-antipyrin zum rot-violetten Quinonimin. Wie oben beschrieben sind die bei der photometrischen Bestimmung gemessenen Konzentrationen proportional zur gefärbten Substanz.

2.7 Auswertung

2.7.1 Gesamtgruppe

Für die Untersuchung der Antilipolyse im 3-Stufen-Glukose-Clamp und für die Messung des Anstiegs der Lipolyse nach dem Glukose-Clamp wurden zunächst die Veränderungen aller Parameter im gesamten Probandenkollektiv mit 24 Personen betrachtet.

2.7.2 Einteilung in insulin-sensibel und --resistent der Gesamtgruppe

Anschliessend wurden die Studienteilnehmer nach dem Median der Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme in der dritten Stufe des Glukose-Clamps unterteilt. Dabei wurde arbiträr das Vorliegen einer Insulinresistenz (IR) bei einer MCR kleiner 8,6ml/kg*min angenommen und insulin-sensible Probanden (IS) hatten definitionsgemäss eine MCR von grösser als 8,6ml/kg*min.

2.7.3 "matched pairs" der insulin-sensiblen und --resistenten Subgruppen

Um auszuschliessen, dass bestimmte Einflussgrössen der Insulinsensitivität, wie zum Beispiel das Geschlecht, der BMI und die WHR die Ergebnisse in den definierten Gruppen verzerren, wurden für den Vergleich zwischen Insulinresistent und -sensibel, Paare mit vergleichbaren Eigenschaften gebildet.

2.7.4 Berechnung der Mittelwerte

Als Baseline werden die Mittelwerte aus den 3 Serum- und Dialysatabnahmen vor dem Beginn des Glukose-Clamps bezeichnet.

Am Ende jeder Stufe des 3-Stufen-Glukose-Clamps werden im Steady State aus den Abnahmen der letzten 40 Minuten die Mittelwerte berechnet.

Die Mittelwerte der Abnahmen im Steady State am Ende des Glukose-Clamps bildeten die Ausgangswerte für die Post-Clamp-Phase und wurde dann mit den gemessenen Werten in der 40. Minute nach Abschalten der Insulininfusion verglichen.

2.7.5 Statistische Auswertung

Die Auswertung erfolgte durch die Abteilung der EDV der Medizinischen Klinik IV Tübingen.

Das Vorhandensein von möglichen Unterschieden in Bezug auf die Geschlechtsverteilung in den verschiedenen Studiengruppen wurden mit Hilfe des π^2 - Tests ausgeschlossen.

Unterschiede der anthropometrischen und basalen metabolischen Daten zwischen den verschiedenen Gruppen wurden mit dem ungepaarten T - Test ermittelt.

Die Varianzanalyse für wiederholte Messungen wurde verwendet, um die zeitabhängigen Parameter, die im Rahmen des 3-Stufen-Glukose-Clamps und in der Post-Clamp-Phase erhoben wurden, auf signifikante Unterschiede zu testen.

Dabei ist der Faktor Gruppe, der die Gruppen der Insulinsensiblen und -resistenten Probanden beschreibt ein "between groups"-Faktor. Der zweite Faktor, die Zeit ist ein "within groups"-Faktor. Er beschreibt die Unterschiede zwischen Beginn und Ende der jeweiligen Versuchsperiode.

Aufgrund der kleinen Fallzahl wurden nur die wesentlichen Punkte (z.B. Anfang und Ende der Glukose-Clamp-Stufe) in der statistischen Auswertung berücksichtigt.

Die Irrtumswahrscheinlichkeiten für die Effekte der einzelnen Faktoren werden folgendermassen bezeichnet:

p_1 beschreibt den Effekt des Faktors Gruppe, d.h. Unterschiede zwischen den metabolischen Parametern der Insulinsensiblen und -resistenten Probanden.

p_2 beschreibt den Effekt des Faktors Zeit, d.h. Unterschiede zwischen Anfang und Ende der Versuchsphase.

p_{12} beschreibt den Effekt der Wechselwirkung zwischen den Faktoren Gruppe und Zeit, d.h. die Unterschiede zwischen Anfang und Ende der Versuchsphase in Abhängigkeit von der Insulinempfindlichkeit.

In den Tabellen zur Statistik sind die Mittelwerte und Standardfehler der untersuchten Parameter angegeben. In der letzten Spalte wird entweder der p-Wert des T-Tests angegeben oder die oben beschriebenen Irrtumswahrscheinlichkeiten p_1 , p_2 und p_{12} die sich aus der Varianzanalyse ergeben.

3 Ergebnisse

3.1 Studienkollektiv der Mikrodialyse-Untersuchung

3.1.1 Anthropometrische Daten der Gesamtgruppe

Es wurden insgesamt 24 Probanden untersucht (s Tab. 3-1). Die Beschreibung der Studienteilnehmer erfolgt immer als erstes in der Gesamtgruppe mit allen Personen.

Im Weiteren werden 13 insulinsensible und 11 insulinresistente Probanden der Gesamtgruppe beschrieben.

In der Betrachtung der Untergruppen zeigt sich demnach ein signifikant höherer BMI und Körperfettmasse bei den Probanden mit Insulinresistenz.

Parameter	Gesamt- gruppe	IS: MCR>8,6 (ml/kg*min)	IR: MCR<8,6 (ml/kg*min)	IS vs. IR p =
Geschlecht(M / W)	14 / 10	8 / 5	6 / 5	0,9
Alter (Jahre)	26,7 ± 1,1	27,9 ± 1,5	25,2 ± 1,7	0,24
BMI (kg/m²)	24,3 ± 1,0	22,1 ± 0,7	27,1 ± 1,7	0,007
WHR	0,81 ± 0,02	0,79 ± 0,02	0,83 ± 0,02	0,25
Fettmasse (in %)	22,4 ± 2,1	18,1 ± 2,1	28,0 ± 3,2	0,01

***Tabelle 3-1:** Anthropometrische Daten der Gesamtgruppe und der insulinsensiblen (IS) und –resistenten (IR) Untergruppen.*

3.1.2 Metabolische Nüchternwerte des gesamten Studienkollektivs

In den Untergruppen hatten die Insulinresistenten deutlich höhere Nüchternwerte für Insulin und Freie Fettsäuren. Zusätzlich wies die Gruppe mit Insulinresistenz nicht signifikant höhere Werte für Leptin, Triglyzeride und

Cholesterin auf, während die Glycerolkonzentrationen im Serum vergleichbar waren. (s. Tab. 3-2)

Parameter	Gesamt- gruppe	IS: MCR>8,6 (ml/kg*min)	IR: MCR<8,6 (ml/kg*min)	IS vs. IR p =
Glukose (mg/dl)	84,6 ± 1,3	84,4 ± 1,9	84,8 ± 1,9	0,879
Insulin (µU/ml)	6,59 ± 0,80	5,15 ± 0,44	8,67 ± 1,68	0,027
FFS (mmol/l)	0,48 ± 0,04	0,40 ± 0,02	0,58 ± 0,09	0,047
Glyzerol (mg/dl)	0,56 ± 0,07	0,51 ± 0,06	0,62 ± 0,13	0,421
Leptin (ng/ml)	10,1 ± 2,2	7,27 ± 2,03	14,2 ± 4,4	0,127
Triglyzeride (mg/dl)	110 ± 14	89,6 ± 6,1	137 ± 31	0,105
Cholesterin (mg/dl)	205 ± 9	191 ± 11	223 ± 13	0,065
LDL (mg/dl)	132 ± 7	123 ± 10	144 ± 9	0,141
HDL (mg/dl)	56,8 ± 2,4	58,1 ± 2,3	55,1 ± 4,8	0,556

Tabelle 3-2: Metabolische Nüchternwerte der Gesamtgruppe und der insulinensiblen (IS) und –resistenten (IR) Untergruppen.

3.1.3 Gepaarte Subgruppen

Aus den Probanden mit und ohne Insulinresistenz wurde wegen der Unterschiede hinsichtlich der anthropometrischen Parameter Geschlecht und BMI zwei weitere Subgruppen mit je 8 Personen gepaart. Die anthropometrischen Daten und die Nüchternwerte sind in der Tabelle 3-3 ersichtlich.

Bei der Betrachtung der gepaarten Gruppen fallen bei den Insulinresistenten lediglich ein Trend zu einer höheren Fettmasse und höhere Nüchternspiegel für Insulin, Freie Fettsäuren, Triglyzeride und Cholesterin auf.

Parameter	IS MCR \geq 8,6 (ml/kg*min)	IR MCR<8,6 (ml/kg*min)	IS vs. IR p =
Geschlecht m/w	5 / 3	5 / 3	1,000
Alter	27,3 \pm 1,6	26,6 \pm 1,7	0,780
BMI	23,4 \pm 0,8	24,2 \pm 1,0	0,518
WHR	0,81 \pm 0,03	0,84 \pm 0,02	0,410
Fettmasse	20,6 \pm 2,7	24,3 \pm 2,8	0,367
Glukose (mg/dl)	85,7 \pm 2,8	85,2 \pm 2,3	0,893
Insulin (μ U/ml)	5,38 \pm 0,71	6,57 \pm 1,21	0,395
FFS (mmol/l)	0,37 \pm 0,02	0,57 \pm 0,12	0,147
Glyzerol (mg/dl)	0,60 \pm 0,10	0,56 \pm 0,10	0,773
Leptin (ng/ml)	9,44 \pm 3,11	8,21 \pm 2,89	0,787
Triglyzeride (mg/dl)	92,6 \pm 9,6	135 \pm 43	0,321
Cholesterin (mg/dl)	185 \pm 15	230 \pm 18	0,069
LDL (mg/dl)	118 \pm 14	150 \pm 13	0,119
HDL (mg/dl)	57,1 \pm 2,8	57,7 \pm 6,4	0,931

Tabelle 3-3: Anthropometrische und metabolische Daten der gepaarten insulinensiblen (IS) und –resistenten (IR) Subgruppen.

3.2 Ergebnisse des 3-Stufen-Glukose-Clamps – in Kombination mit der Mikrodialyse

3.2.1 Metabolische Veränderungen in der Gesamtgruppe

3.2.1.1 Gewebedurchblutung

Die mit der Ethanol-Auswaschtechnik gemessene outflow/inflow Ratio ergab für das periumbilikale Fettgewebe $0,47 \pm 0,03$. Im M. tibialis ant. lag die Ratio bei $0,24 \pm 0,03$. Dieser Unterschied weist auf eine signifikant höhere Durchblutung

im Skelettmuskel hin ($p < 0,05$), was auch bei anderen Arbeitsgruppen [83,88,92] und durch invasivere Methoden bereits beschrieben wurde [105,106].

Während der gesamten Untersuchung ergaben sich im Fettgewebe als auch im Skelettmuskel keine signifikanten Veränderungen der outflow/inflow Ratio und somit der Durchblutung. Die absoluten Werte der outflow/inflow Ratio blieben im Fettgewebe doppelt so hoch wie im Skelettmuskel. (s. Abb. 3-1)

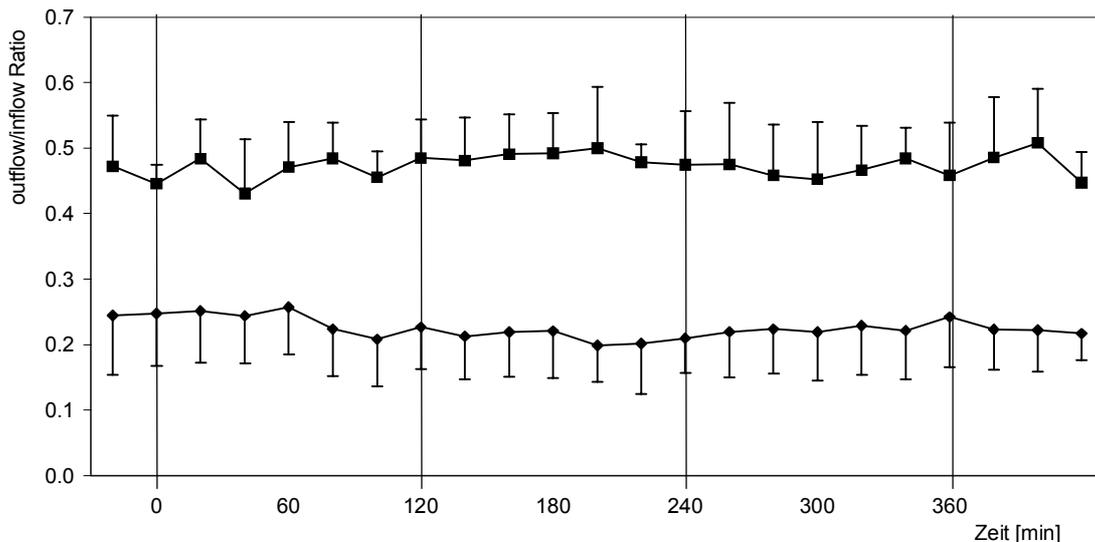


Abbildung 3-1: outflow/inflow Ratio im 3-Stufen-Glukose-Clamp im Fettgewebe (Kurve oben) und Muskelgewebe (Kurve unten)

3.2.1.2 Basalwerte der Glycerolkonzentration aus dem Fett- und Muskelgewebe

Die Glycerolkonzentration aus dem Dialysat des Fettgewebes lag zu Beginn (nüchtern) bei $1,97 \pm 0,17$ mg/dl. In der Muskulatur wurden dagegen um den Faktor 5 signifikant niedrigere Dialysat-Konzentrationen mit $0,39 \pm 0,05$ mg/dl gemessen. (s. Tab. 3-4)

3.2.1.3 Glukose im Serum und Glukose-Infusions-Rate

Die Glukosespiegel im Blut wurden während des gesamten Versuches auf dem Ausgangsniveau gehalten.

In der 1. Stufe des Glukose-Clamps blieb der Blutzucker ohne Glukose-Infusion konstant. Dabei stiegen die Insulinwerte um 54% von $6,19 \pm 0,54 \mu\text{U/ml}$ auf $9,54 \pm 0,61 \mu\text{U/ml}$ an. Ab der 2. Stufe des Clamps musste bei einem Insulinspiegel von $19,3 \pm 2,8 \mu\text{U/ml}$ Glukose infundiert werden, um die Serum-Glukose konstant zu halten (GIR $2,0 \pm 0,2 \text{ mg/kg*min}$). Dies ist ein weiterer Anstieg der Insulinkonzentration um 102%. Mit einer GIR von $7,9 \pm 0,5 \text{ mg/kg*min}$ war der Blutzucker in der 3. Stufe stabil. Insulin erreichte hier Werte von $55,8 \pm 4,0 \mu\text{U/ml}$ im Serum, was einer Erhöhung um 189% zur zweiten Stufe entspricht. (s. Tab. 3-4)

	Baseline	GC I	GC II	GC III
Glukose (mg/dl)	88 ± 2	$86,1 \pm 1,5$	$87,6 \pm 1,2$	$88,5 \pm 1,46$
Serum Insulin ($\mu\text{U/ml}$)	$6,19 \pm 0,54$	$9,54 \pm 0,61^*$	$19,3 \pm 2,8^*$	$55,8 \pm 4,0^*$
GIR (mg/kg*min)			$2,0 \pm 0,2^*$	$7,9 \pm 0,5^*$
Serum FFS (mmol/l)	$0,45 \pm 0,04$	$0,30 \pm 0,04^*$	$0,10 \pm 0,02^*$	$0,03 \pm 0,01^*$
Serum-Glyzerol (mg/dl)	$0,50 \pm 0,03$	$0,37 \pm 0,03^*$	$0,27 \pm 0,02^*$	$0,24 \pm 0,02^*$
Skelettmuskel-Glyzerol (mg/dl)	$0,39 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,04^*$	$0,21 \pm 0,04^*$	$0,21 \pm 0,04$
Fettgewebe-Glyzerol (mg/dl)	$1,97 \pm 0,17$	$1,63 \pm 0,14$	$1,18 \pm 0,19^*$	$0,54 \pm 0,08^*$
Ethanol outflow/inflow-Ratio Skelettmuskel	$0,24 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,02$	$0,22 \pm 0,03$	$0,23 \pm 0,03$
Ethanol outflow/inflow-Ratio Fettgewebe	$0,47 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,03$	$0,47 \pm 0,03$	$0,47 \pm 0,03$

Tabelle 3-4: Metabolische Parameter im 3-Stufen Glukose-Clamp (GC I-III) in der Gesamtgruppe. GIR: Glukose Infusions Rate, FFS: Freie Fettsäuren. Alle Werte sind Mittelwerte der letzten 40 Minuten jeder Stufe. * $p < 0,05$ bedeutet ein signifikanter Unterschied zur vorherigen Stufe.

3.2.1.4 Veränderungen in Serum

Die Serumwerte für Insulin stiegen vom Ausgangsniveau vor dem Clamp in jeder Stufe nach einem schnellen und steilen Anstieg auf ein gleichmässiges Plateau.

Die Glycerolkonzentration nahm mit steigender Insulininfusion in jeder Clamp-Stufe signifikant ab. In der ersten beiden Stufen war diese Reduktion 26% und 20%. In der dritten Stufe wurde das Serumglyzerol um weitere 6% gesenkt.

Auch die Freien Fettsäuren wurden signifikant supprimiert, wobei die prozentuale Abnahme in jeder neuen Stufen mit 33%, 39% und 15% angegeben werden kann. (s. Tab. 3-4)

3.2.1.5 Veränderungen im Fettgewebe

Die Dialysatkonzentrationen für Glycerol waren direkt vor dem Clamp etwa 5 mal höher als in der Muskulatur. In jeder Clamp-Stufe fiel die Glycerolkonzentration signifikant ab, wobei der Abfall in der letzten Stufe am grössten war. Im einzelnen wurden die Konzentrationen für Glycerol in der ersten Clamp-Stufe um 17% gesenkt. In der zweiten Stufe war die Reduktion 23% zur vorherigen Stufe und in der letzten Stufe konnte eine weitere Abnahme um 33% gemessen werden. (s. Tab. 3-4)

3.2.1.6 Veränderungen im Skelettmuskel

Bei gegenüber dem Fettgewebe geringeren Glycerolkonzentrationen im Dialysat des Muskels wurde ein Abfall des Glycerols in der Muskulatur gemessen. Die Abnahme der Glycerolkonzentration lag in der ersten Stufe bei 28% im Vergleich zum Ausgangswert. In der zweiten Stufe wurde das Glycerol um weitere 18% reduziert. Diese beiden Abnahmen der jeweiligen Clamp-Stufe waren signifikant. Eine Erhöhung der Insulininfusion in der letzten und dritten Stufe des Glukose-Clamps ergab keine weitere Veränderung der Glycerolkonzentration. (s. Tab. 3-4)

3.2.2 Metabolische Veränderungen bei den gepaarten Subgruppen

Wie in 2.7.3 und 3.1.3 beschrieben, werden hier die gepaarten Subgruppen miteinander verglichen. Die Einteilung erfolgt in eine insulinresistente - und in eine insulinsensible Gruppe.

3.2.2.1 Veränderungen im Serum

3.2.2.1.1 Insulin

Die Insulinkonzentrationen zeigten im 3-Stufen-Clamp zwischen der insulinresistenten - und der insulinsensiblen Gruppe keine signifikanten Unterschiede. Der Kurvenverlauf beider Gruppen war annähernd identisch (s. Abb. 3-2).

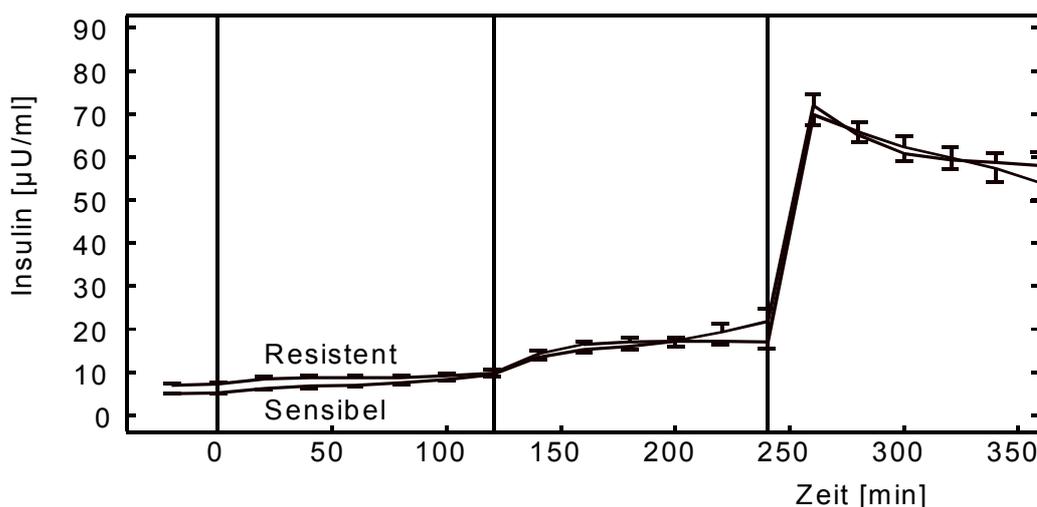


Abbildung 3-2: Insulinkonzentrationen im Serum im 3-Stufen Glukose-Clamp in den gepaarten Gruppen

3.2.2.1.2 Glyzerol

Die Glyzerolkonzentration fiel in beiden gepaarten Gruppen über den gesamten Clamp kontinuierlich ab. Es bestand zwischen den Gruppen zu keiner Zeit ein signifikanter Unterschied (s. Abb. 3-3). Dabei lagen die Werte für Glyzerol im Serum in den ersten beiden Clamp-Stufen in der Resistenten Gruppe leicht oberhalb den Werten der Insulinsensiblen.

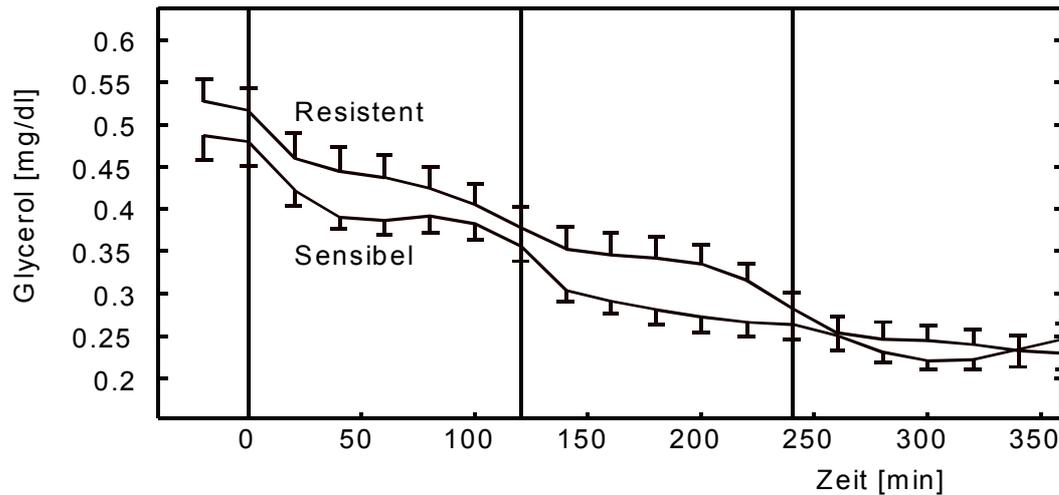


Abbildung 3-3: Glycerolkonzentration im Serum im 3-Stufen Glukose-Clamp in den gepaarten Gruppen

3.2.2.1.3 Freien Fettsäuren

Die Freien Fettsäuren waren in der Gruppe mit Insulinresistenz vor dem Glukose-Clamp höher als in der insulinsensiblen Gruppe ($p_1=0,136$).

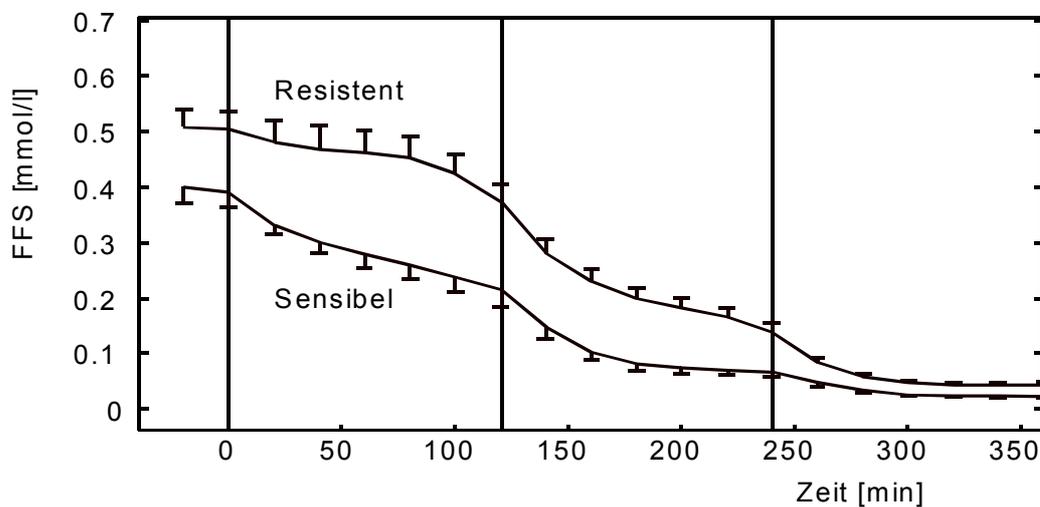


Abbildung 3-4: Freie Fettsäuren (FFS) im Serum im 3-Stufen Glukose-Clamp in den gepaarten Gruppen

Bei jeder Insulinerhöhung am Anfang einer Clamp-Stufe fielen die Kurven steiler ab als während der einzelnen Stufe. Zu jedem Zeitpunkt lagen die Werte

für Freie Fettsäuren im Serum der resistenten Gruppe höher als in der Vergleichsgruppe. Am Ende der einzelnen Glukose-Clamp-Stufen im Steady State wurde der Unterschied der Konzentration an Freien Fettsäuren zwischen den Subgruppen signifikant (GC I: $p_1=0,05$; GC II: $p_1=0,04$ und GC III: $p_1=0,02$). (siehe Abbildung 3-4).

3.2.2.2 Veränderungen im Fettgewebe

Sowohl nüchtern, als auch unter den verschiedenen Glukose-Clamp-Stufen liessen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen nachweisen. Die Suppression der interstitiellen Glyzerolkonzentration im Fettgewebe war in beiden Gruppen im Glukose-Clamp gleich, erscheint jedoch in der zweiten Stufe in der insulinresistenten Vergleichsgruppe etwas schneller und ausgeprägter zu sein (s. Abb. 3-5).

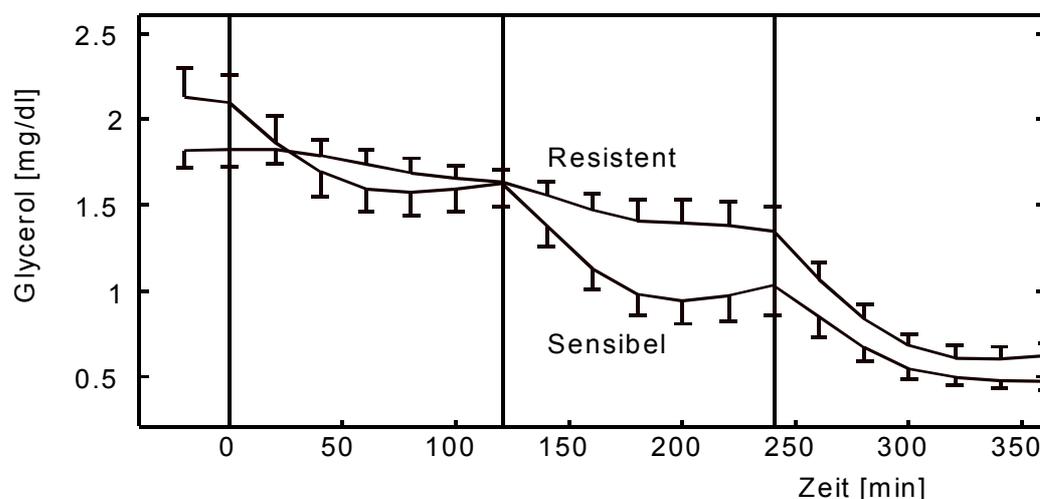


Abbildung 3-5: Glyzerol aus dem Dialysat des Fettgewebes im 3-Stufen Glukose-Clamp in den gepaarten Gruppen

3.2.2.3 Veränderungen im Skelettmuskel

Personen mit Insulinresistenz zeigten zu jedem Zeitpunkt im M. tibialis ant. eine höhere Konzentration an Glyzerol im Dialysat (keine Signifikanz der Basalwerte mit $p_1=0.083$). In allen drei Clamp-Stufen war ein statistisch signifikanter

Unterschied der Dialysatkonzentration für Glycerol am Ende jeder Stufe zwischen den Gruppen gegeben (GC I: $p_1=0,03$; GC II: $p_1=0,01$ und GC III: $p_1=0,02$), (s. Abb. 3-6).

Eine besondere Auffälligkeit zeigt sich in der Stufe mit der geringsten Insulininfusion. Während die Glycerolkonzentration bei den Insulinsensiblen um 38% abfiel, veränderten sich die Glycerolwerte im Dialysat in der resistenten Gruppe nur unwesentlich (-2,6%) ($p_{12}=0,03$ am Ende der 1. Stufe). Zwischen der 120. und der 240. Minute verliefen die Kurven der Glycerolwerte annähernd parallel, d. h. mit gleichem Abfall.

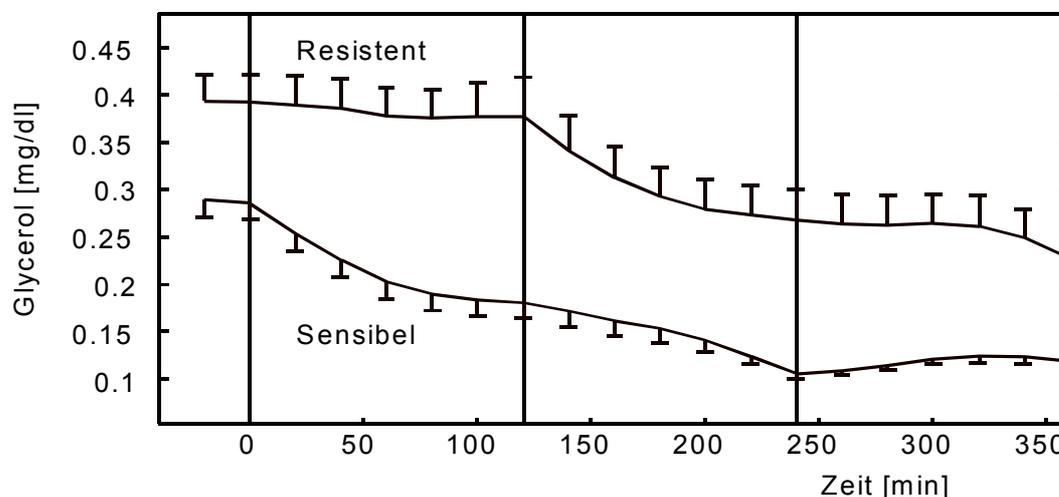


Abbildung 3-6: Glycerol aus dem Dialysat des Skelettmuskels im 3-Stufen Glukose-Clamp in den gepaarten Gruppen

Während in der letzten Stufe die Glycerolspiegel der insulinsensiblen Personen nicht weiter supprimierbar waren, sank die Glycerolkonzentration bei den Personen mit Resistenz weiterhin ($p_{12}=0,066$ am Ende der 3. Clamp-Stufe).

3.3 Post-Clamp-Phase - Effekte einer akuten Reduktion der Hyperinsulinämie

3.3.1 Metabolische Veränderungen in der Gesamtgruppe

In der letzten Stunde des Clamps lagen die Insulinkonzentrationen im Serum in der Gesamtgruppe bei $55,8 \pm 4,0 \mu\text{U/ml}$. Mit dem Abschalten der Insulininfusion und dem Beginn der Post-Clamp-Phase sanken die Insulinspiegel innerhalb von 40 Minuten um 60% auf $22,2 \pm 3,1 \mu\text{U/ml}$ ab ($p_2=0,0005$). (s. Tab. 3-5)

Die Glukosespiegel wurden weiterhin mit einer Glukoseinfusion bei ca. 84mg/dl konstant gehalten.

	Ende Glukose-Clamp	40. Minute	P₂
Insulin ($\mu\text{U/ml}$)	$55,8 \pm 4,0$	$22,2 \pm 3,1$	0,0005
FFS Serum (mmol/l)	$0,03 \pm 0,01$	$0,22 \pm 0,04$	0,0005
Glyzerol Serum (mg/dl)	$0,24 \pm 0,02$	$0,48 \pm 0,06$	0,0005
Glyzerol Fettgewebe (mg/dl)	$0,54 \pm 0,08$	$1,34 \pm 0,14$	0,0005
Glyzerol Skelettmuskel (mg/dl)	$0,21 \pm 0,04$	$0,33 \pm 0,07$	0,051

Tabelle 3-5: Metabolische Veränderungen der Gesamtgruppe in der Post-Clamp-Phase

Die Konzentration der Freien Fettsäuren stieg um über das 7-fache vom Ende des Glukose-Clamps bis zum Ende der Post-Clamp-Phase ($p_2=0,0005$).

Das Glyzerol im Serum verdoppelte sich in der Post-Clamp-Phase bis zur 40. Minute ($p_2=0,0005$).

Im Fettgewebe erhöhte sich die Glyzerolkonzentration um das 2 ½-fache innerhalb der 40 Minuten nach dem Glukose-Clamp ($p_2=0,0005$).

Die Glycerolkonzentration aus dem Dialysat des Muskel stieg in der Post-Clamp-Phase um 57% an ($p_2=0,051$).

3.3.1.1 Durchblutung in den Geweben

Auch in diesem Versuch ergaben sich im Fettgewebe als auch im Skelettmuskel keine signifikanten Veränderungen der outflow/inflow Ratio und somit der Durchblutung. Wie im 3-Stufen-Glukose-Clamp waren die absoluten Werte der outflow/inflow Ratio im Fettgewebe doppelt so hoch als in dem Skelettmuskel (s. Abb. 3-1).

3.3.2 Metabolische Veränderungen bei den gepaarten Gruppen

3.3.2.1 Veränderungen im Serum

3.3.2.1.1 Insulin

Die Insulinspiegel zeigten zwischen den gepaarten Gruppen keinen Unterschied. Die Konzentrationen fielen innerhalb der ersten 20 Minuten am stärksten ab (s.Abb. 3-7).

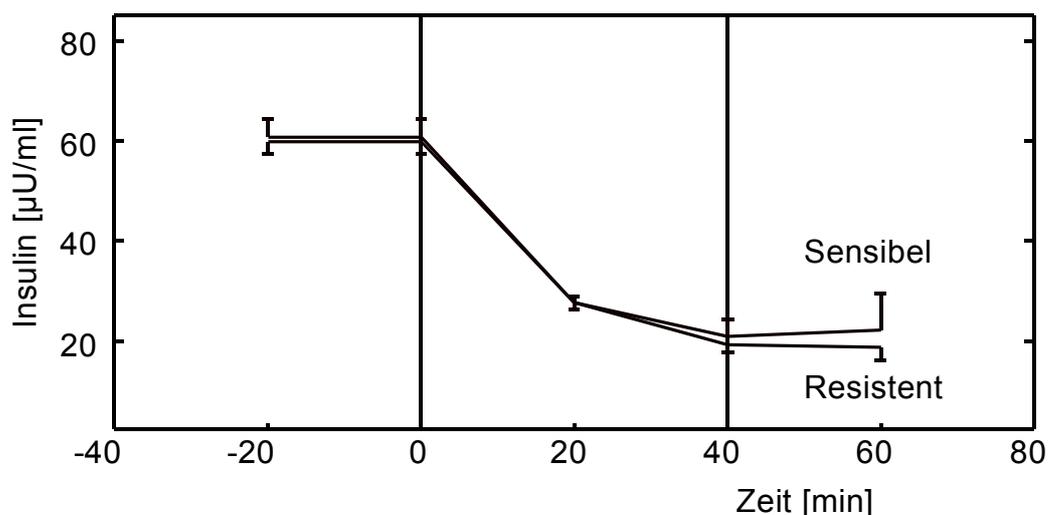


Abbildung 3-7: Insulin im Serum in der Post-Clamp-Phase bei insulin sensiblen und -resistenten Personen

3.3.2.1.2 Glycerol

Am Ende des 3-Stufen-Glukose-Clamps waren die Glycerolkonzentrationen bei den Insulinsensiblen leicht höher als bei den Insulinresistenten. Zu den einzelnen Zeitpunkten in der Post-Clamp-Phase liessen sich zwischen den Subgruppen keine signifikanten Unterschied berechnen. Dagegen stieg das Glycerol in der insulinresistenten Gruppe signifikant steiler an (Unterschied Steigung $p_{12}=0,04$) und erreichte in der 40. Minute deutlich höhere Spiegel als in der Gruppe der Insulinsensiblen (s. Abb. 3-8).

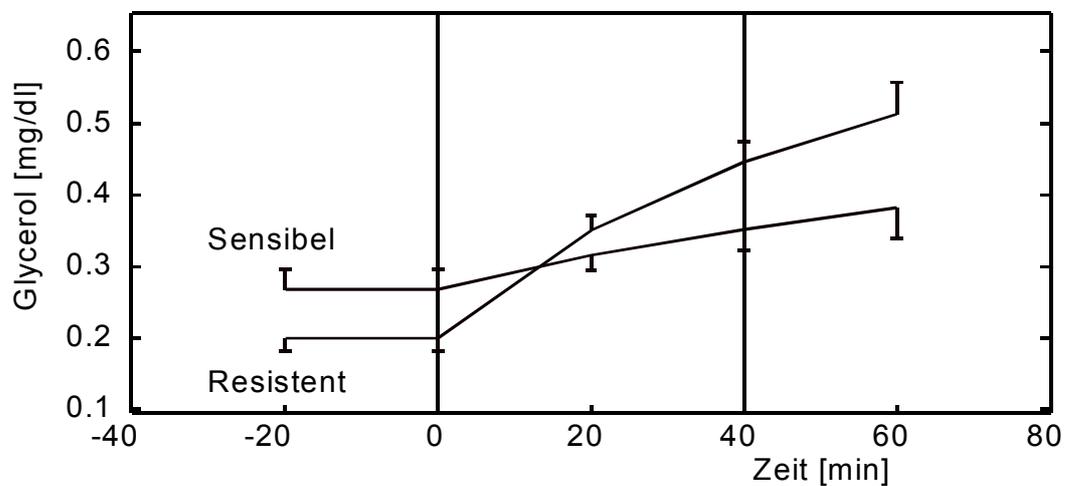


Abbildung 3-8: Glycerol im Serum in der Post-Clamp-Phase bei insulinsensiblen und -resistenten Personen

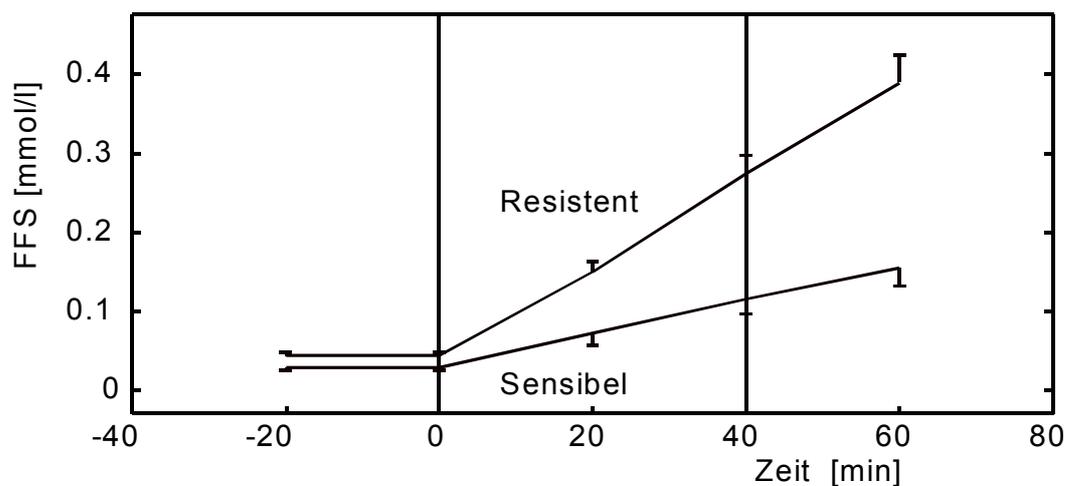


Abbildung 3-9: Freien Fettsäuren (FFS) im Serum in der Post-Clamp-Phase bei insulinsensiblen und -resistenten Personen

3.3.2.1.3 Freien Fettsäuren

Auch der Anstieg der Freien Fettsäuren war, bei fast identischen Basalwerten, in der Gruppe mit Insulinresistenz steiler (Unterschied Steigung $p_{12}=0,007$). Am Ende der Post-Clamp-Phase waren die Konzentrationen an Freien Fettsäuren bei insulinresistenten Personen signifikant höher als in der insulinsensiblen Vergleichsgruppe ($p_1=0,05$) (s. Abb. 3-9).

3.3.2.2 Veränderungen im Fettgewebe

Das Glycerol im Dialysat des Fettgewebes am Ende des Glukose-Clamps war zwischen den zwei Gruppen vergleichbar (s. Abb. 3-10). Nach dem Abschalten der Insulininfusion stieg das Glycerol in den nächsten 40 Minuten bei den Insulinresistenten signifikant steiler an als bei den Insulinsensiblen (Unterschied der Steigung $p_{12}=0,002$). In der 40. Minute war der Unterschied zwischen den Gruppen mit $p_1=0,05$ signifikant.

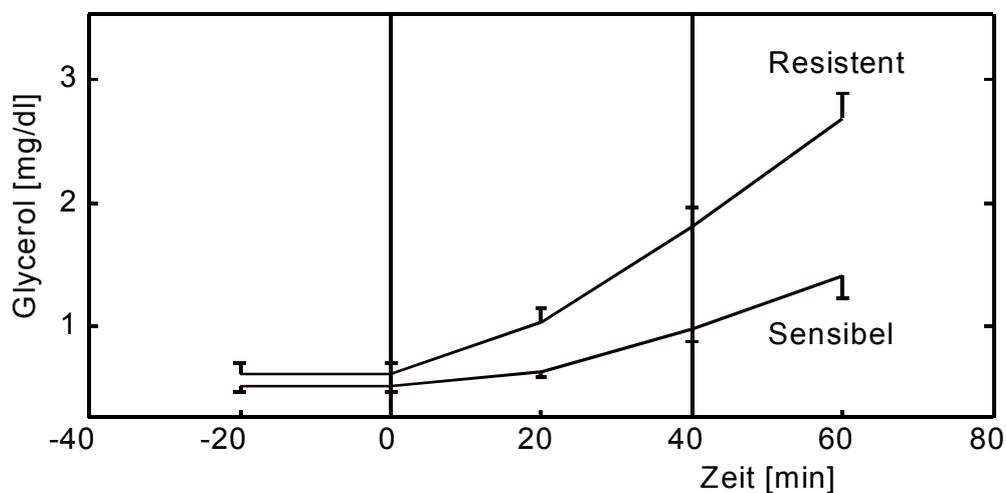


Abbildung 3-10: Glycerol im Fettgewebe in der Post-Clamp-Phase bei insulinsensiblen und –resistenten Personen

3.3.2.3 Veränderungen im Skelettmuskel

Vergleicht man die Gruppen miteinander, so lagen zu jedem Zeitpunkt des Versuches die Glycerolkonzentrationen aus dem Dialysat des Muskels bei

identischen Insulinspiegeln in der Gruppe mit Insulinresistenz signifikant höher als in der insulinsensiblen Gruppe ($p_1=0,02$).

Bis zu 20 Minuten nach Abschalten der Insulininfusion blieben die Konzentrationen konstant. Am Ende der Post-Clamp-Phase war der Anstieg des Glycerols bei den Personen mit Insulinresistenz stärker als bei den insulinsensiblen Personen ausgeprägt, es wird aber keine statistische Signifikanz erzielt (s. Abb. 3-11).

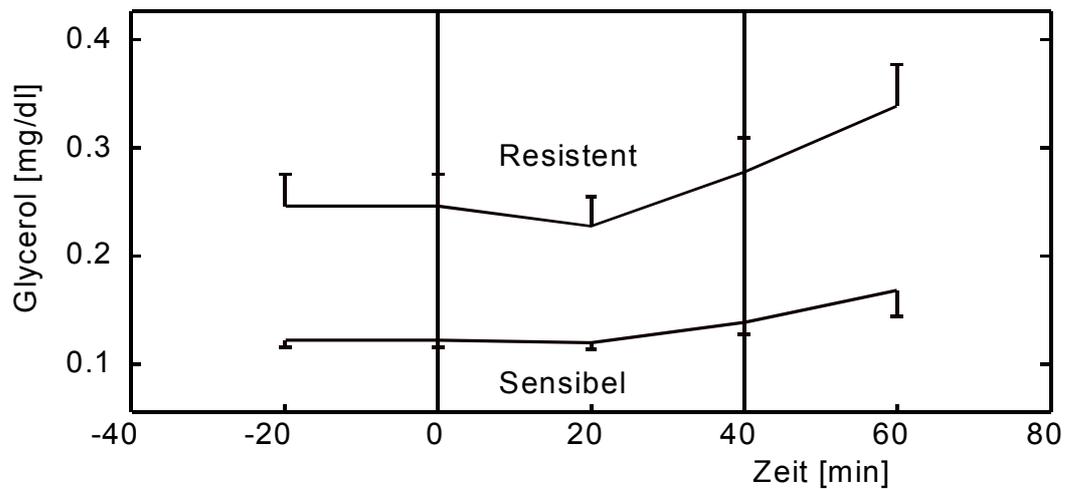


Abbildung 3-11: Glycerol im Skelettmuskel in der Post-Clamp-Phase bei insulinsensiblen und –resistenten Personen

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wird ein neues, ein drittes Kompartiment der Fettverteilung beschrieben, welches eine wesentliche Bedeutung für die Pathogenese der Insulinresistenz und des Typ 2 Diabetes zu haben scheint. Es wurde untersucht, ob das muskuläre Fett durch Insulin kontrolliert wird. Weiter war von Interesse, ob regionale Unterschiede zwischen dem Fettgewebe und dem Skelettmuskel bestehen und ob sich Unterschiede zwischen insulinresistenten und insulinsensiblen Personen zeigen lassen.

Dazu wurde die Technik der Mikrodialyse eingesetzt, bei der das Glycerol im Dialysat der interstitiellen Flüssigkeit als Marker für die Lipolyse im Gewebe benutzt wurde. Kombiniert wurde diese Technik mit einem 3-Stufen isoglykämischen Glukose-Clamp.

Die vorliegende Arbeit bestätigt die bisherigen Beobachtungen, dass im Skelettmuskel eine Lipolyse nachweisbar ist und dass diese hormonell durch Insulin reguliert wird.

Erstmalig wird in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass die lokale Lipolyse durch kleinste Mengen an Insulin sowohl im Fettgewebe als auch im Skelettmuskel kontrolliert wird.

Weiterhin neu ist die Beobachtung, dass bei nicht-diabetischen, normalgewichtigen Personen mit Insulinresistenz die Regulation der Lipolyse im Skelettmuskel, wie auch die Lipolyse im Fettgewebe gestört ist.

Dieses Ergebnis deutet auf eine besondere Rolle des muskulären Fettkompartiments in der Pathogenese der Lipolyse bei der Entstehung der Insulinresistenz hin.

4.1 Die Lipolyse wird sowohl im Fettgewebe als auch im Skelettmuskel hormonell fein reguliert

Die vorliegenden Untersuchungen mit der Kombination von einem euglykämischen hyperinsulinämischen Glukose-Clamp mit der Mikrodialyse-Technik konnten zeigen, dass nicht nur im Fettgewebe, sondern auch im

Skelettmuskel eine Lipolyse stattfindet. Ähnliche Beobachtungen können von anderen Arbeitsgemeinschaften, wo auch mit Hilfe der Mikro dialyse Glycerolfreisetzen im Fettgewebe und in der Muskulatur gezeigt werden konnten [83,92,93], bestätigt werden.

Diese bisherigen Studien wurden jedoch mit supraphysiologischen Insulinkonzentrationen im euglykämischen hyperinsulinämischen Glukose-Clamp durchgeführt. Hier induzierte die Hyperinsulinämie über zwei Stunden eine ca. 45-50% Reduktion der Lipolyse im Skelettmuskel, gemessen an der Glycerolkonzentration im Dialysat.

Ein Nachteil dieses konventionellen Glukose-Clamps sind die supraphysiologischen Insulinspiegel, welche im normalen Alltag nicht erreicht werden. Die Lipolyse kann dabei nur eingeschränkt beurteilt werden, da diese schon bei viel niedrigeren Insulinspiegeln supprimiert wird. Ein weiterer Nachteil besteht in der groben Betrachtung der Antilipolyse und der Glukoseverwertung im Gesamtkörper; es können keine Aussagen über lokale Prozesse gemacht werden.

Der in dieser Arbeit eingesetzte 3-Stufen-Glukose-Clamp erlaubt es, die Insulinsensitivität der Antilipolyse etwas genauer zu analysieren, indem weitere deutlich geringere Insulinspiegel eingesetzt wurden. Man geht davon aus, dass bei diesen Konzentrationen an Insulin die Glukoseaufnahme noch nicht oder nur unwesentlich stimuliert ist, daher die Plasma-Glukose-Konzentration nicht abfällt und deshalb keine Glukose infundiert werden muss [31].

In den ersten beiden Clamp-Stufen der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Gabe von Insulin die Lipolyse im Fettgewebe und im Skelettmuskel schon durch geringste physiologische Mengen an Insulin hemmt (s. Tab. 3-4). Es scheint, dass die Lipolyse im Skelettmuskel empfindlicher auf Insulin reagiert als im Fettgewebe [94]. Daten von Moberg et al. [95] konnten die antilipolytische Wirkung von kleinsten Mengen an Insulin im Fettgewebe und im Skelettmuskel mittlerweile bestätigen.

Die Serumkonzentrationen für Glycerol und Freie Fettsäuren nahmen in den ersten beiden Stufen des Glukose-Clamps um ca. 1/4 und ca. 1/3 am stärksten ab. In der dritten Stufe war dieser Effekt nicht mehr ganz so stark ausgeprägt.

Während im Fettgewebe die Glycerolkonzentration in jeder Clamp-Stufe stärker abfiel, war in der Muskulatur die Abnahme des Glycerols aus dem Dialysat in der ersten Stufe am stärksten ausgeprägt. Die Glycerolwerte im Skelettmuskel konnten in der dritten Stufe mit den höchsten Plasmaspiegel an Insulin nicht weiter gesenkt werden.

Diese Beobachtung wird von anderen Arbeitsgruppen bestätigt [83,92,93,95].

Die Bedeutung der fehlenden Supprimierung der Glycerolspiegel im Muskel in der dritten Stufe ist derzeit noch unklar: Eine Möglichkeit wird in einer trotz Hyperinsulinämie weiterbestehenden Lipolyse gesehen. Eine andere Erklärung könnte eine Freisetzung von Glycerol aus der Glykolyse sein.

Für die unterschiedliche Ausprägung der Insulinwirkung im Skelettmuskel und im Fettgewebe kommen verschiedene Phosphodiesterase-Subtypen (PDEs) [92] in Betracht. Die Antilipolyse wird durch Insulin unter anderem über cAMP-Phosphodiesterasen aktiviert. Enoksson et al. [92] konnte zeigen, dass im Skelettmuskel Insulin nicht über die PDE 3, -4 und -5 wirkt; im Fettgewebe aber die Antilipolyse über diese PDEs zum grössten Teil getriggert werden.

Die Dialysatkonzentrationen für Glycerol waren direkt vor dem Glukose-Clamp im Fettgewebe etwa 5 mal höher als in der Skelettmuskulatur. Dadurch erscheinen die Werte für Glycerol im Skelettmuskel relativ gering. Berücksichtigt man die deutlich höhere Durchblutung (Ethanol outflow/inflow Ratio von 0,23 vs. 0,47) und die geringere Recovery von Glycerol im Skelettmuskel (60% vs. 96%) [96], dann wird die muskuläre Lipolyse durch die relativ niedrigen Glycerolwerte im Dialysat unterschätzt.

Zieht man weiterhin in Betracht, dass der gemischte M. tibialis ant., wie Kernspinuntersuchungen zeigen konnten [97], im Gegensatz zum roten M. soleus nur ein Drittel des Gehaltes an intramyozellulärem Fett aufweist und rechnet man die Absolutmenge der Muskelmasse im Körper mit ein, so kann man von einem relevanten Beitrag zur Gesamtkörper-Lipid-Oxidation der im Muskel stattfindenden Lipolyse ausgehen.

4.2 Insulinresistenz der Glukoseaufnahme ist assoziiert mit einer Insulinresistenz der Antilipolyse

Die vorliegende Arbeit zeigt erstmalig, dass gesunde Personen, bei welchen eine Insulinresistenz der Glukoseaufnahme vorliegt, ebenso eine Störung der insulinvermittelten Antilipolyse im Skelettmuskel aufweisen. Im Fettgewebe ist diese Störung weniger und nicht signifikant ausgeprägt (s. Abb. 3-5 und 3-6).

Diese Beobachtung deutet auf einen engen Zusammenhang zwischen der Insulinsensitivität der Glukoseaufnahme und der Insulinsensitivität der Antilipolyse, – besonders im Skelettmuskel hin.

Über die Insulinsensitivität der Antilipolyse des Skelettmuskels, insbesondere im Vergleich Insulinresistenz versus Insulinsensitivität, liegen in der bisherigen Literatur noch keine vergleichbaren Daten vor.

Eriksson et al. [98] untersuchte in einem 2-Stufen-Glukose-Clamp die antilipolytische Wirkung von Insulin im Fettgewebe bei nicht-diabetischen Verwandten Ersten Grades von Patienten mit Typ 2 Diabetes und bei Personen ohne familiäre Vorbelastung. Die Lipolyse in der Muskulatur wurde dabei nicht untersucht. Die Ergebnisse von Eriksson und seinen Kollegen zeigen eine verminderte insulinvermittelte Reduktion der Glycerolkonzentration im Fettgewebe bei den insulinresistenten Nachkommen von Typ 2 Diabetikern, verglichen mit der Kontrollgruppe ohne familiäre Vorbelastung.

Bei den Untersuchungen dieser Arbeit konnte eine verminderte insulinvermittelte Reduktion der Glycerolkonzentration im Fettgewebe bei Personen mit Insulinresistenz der Glukoseaufnahme gefunden werden, wobei in unserer Studie keine Signifikanz erzielt wurde (s. Abb. 3-5). Die Versuchsbedingungen waren bei uns jedoch unterschiedlich (Ausdehnung des Glukose-Clamps auf 3 Stufen mit unterschiedlichen Insulindosierungen).

Neu in der vorliegenden Arbeit sind die Untersuchungen der antilipolytischen Wirkung von Insulin in der Skelettmuskulatur, hier in dem M. tibialis ant. mit gemischtem Fasertyp bei insulinresistenten und –sensiblen Personen. In der Gruppe mit Insulinresistenz der Glukoseaufnahme waren die Glycerolkonzentrationen im Muskel zu jedem Zeitpunkt auf einem signifikant

höherem Niveau und liessen sich durch Insulin schlechter supprimieren. Dabei erscheint die Dosis-Wirkungskurve nach rechts verschoben (s. Abb. 3-6).

Das ist besonders relevant, da bei einer Insulinresistenz auch häufig eine Erhöhung des muskulären Fettgehalts vorliegt [97,99].

So ist denkbar, dass diese intramyozellulären Fettsäuren durch Substrat-Kompetition (Randle) und durch direkte Mechanismen [54-57,59,100-102] die insulin-stimulierte Glukoseaufnahme reduzieren.

Neuesten Studien zufolge muss angenommen werden, dass eine erhöhte Verfügbarkeit von FFS im Zytosol des Skelettmuskels neben der direkten Substrat-Kompetition über eine Störung der Insulin-Signal-Transduktion die Insulinresistenz induziert. Man findet eine Reduktion der IRS-1 assoziierten PI3-Kinase-Aktivität sowie eine Stimulation der PKC nach Infusion von Intralipid und Heparin [100,101]. Eine erhöhte PKC-Aktivität wird auch bei chronisch fettreich ernährten Ratten, einem Tiermodell für die induzierte Insulinresistenz, beschrieben [103].

4.3 Aktivierung der Lipolyse durch sinkende Insulinspiegel nach einer Hyperinsulinämie – Post-Clamp-Phase

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Lipolyse durch Wegfall der antilipolytischen Wirkung von Insulin sehr schnell wieder ansteigt und dass klare Unterschiede zwischen insulinresistenten und insulinsensiblen Personen nach einer Hyperinsulinämie vorhanden sind.

Nach akutem Abfall der zirkulierenden, hochphysiologischen Insulinspiegel am Ende des Glukose-Clamps auf Ausgangsniveau, steigt die Lipolyse wieder an (s. Tab. 3-5). Diese schnelle Dis-Inhibition der Lipolyse weist auf eine strenge Kontrolle durch Insulin hin.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen einen stärkeren Anstieg von Freien Fettsäuren im Serum bei Personen mit Insulinresistenz der Glukoseaufnahme bei vergleichbarem Insulinabfall in beiden Gruppen (s. Abb. 3-7 und Abb. 3-9). Auch im Fettgewebe konnte ein steilerer Anstieg der interstitiellen

Glyzerolkonzentration bei insulinresistenten Probanden gemessen werden (s. Abb. 3-10).

Im Skelettmuskel gab es zwar zwischen beiden Gruppen keinen Unterschied im relativen Verlauf der Glyzerolwerte aber dafür waren die Absolutwerte für Glyzerol in der Gruppe mit Insulinresistenz, bei vergleichbaren Insulinspiegeln, signifikant höher als in der insulinsensiblen Kontrolle (s. Abb. 3-11).

Vergleichbare Daten über den Skelettmuskel kann man in der bisherigen Literatur noch nicht finden. Den Wiederanstieg der Lipolyse nach einem hypoglykämischen hyperinsulinämischen Glukose-Clamp beschrieb 1997 Hagstrom-Toft et al. [83] mit einer Aktivierung der Lipolyse im Fettgewebe, in der Muskulatur und im systemischen Kreislauf. In dieser Studie wurde durch eine Insulininfusion eine Hypoglykämie induziert. Der Effekt der Aktivierung der Lipolyse lässt sich aber nicht nur auf die absinkenden Insulinspiegel nach dem Clamp zurückführen, sondern wird durch die Hypoglykämie und damit einer induzierten Stressreaktion und Katecholaminausschüttung mit beeinflusst. Ein direkter Vergleich dieser Daten mit unseren Ergebnissen, bei denen der Blutzucker konstant gehalten wurde und damit keine Aktivierung des sympathischen Nervensystems stattfand, ist deshalb nur sehr beschränkt möglich.

In der vorliegenden Studie haben wir daher ausdrücklich die Glukose-Spiegel weiterhin konstant gehalten ("geclamt"), um eine Hypoglykämie und somit eine Stressreaktion zu vermeiden. In den beiden Gruppen sind auch die Insulinspiegel vergleichbar; demnach ist zu vermuten, dass die Gruppe mit der Insulinresistenz der Glukoseaufnahme auch eine erhöhte Sensitivität der Stimulation der Lipolyse aufweist.

Die Konzentration von Glyzerol steigt bei unseren Untersuchungen im Fettgewebe stärker an als im Skelettmuskel. Ein Grund hierfür könnten zum Beispiel selektive Phosphodiesterasen mit unterschiedlicher Aktivität der hormon-sensitiven Lipase oder andere unbekanntere Rezeptor-Unterschiede sein.

Durch eine höhere Durchblutung in der Skelettmuskulatur (s. Ethanol outflow/inflow ratio) könnte die Dialysatkonzentration von Glycerol unterschätzt werden, bei eigentlich deutlich höherer Lipolyseaktivität. So lassen sich die gemessenen Glycerolwerte zwischen den Geweben nicht vergleichen.

4.4 Limitierung der Studie

In der Skelettmuskulatur wurden in der vorliegenden Studie die Dialysatkonzentrationen von Glycerol gemessen, welche der Konzentration in der interstitiellen Flüssigkeit entsprechen. Das Fett im Skelettmuskel setzt sich aber aus extra- und intramyozellulären Lipiden zusammen. Somit konnte der genaue Ort der Glycerolproduktion und somit der Lipolyse nicht eindeutig bestimmt werden. Die für die Insulinresistenz mit verantwortlichen intramyozellulären Lipide wurden nicht separat erfasst. Es wird lediglich die Lipolyse im Muskelkompartiment wiedergegeben.

4.5 Klinische Relevanz der Lipolyse im Skelettmuskel

Eine vermehrte Lipidakkumulation in der Muskulatur, primär unabhängig von der intra- oder extramyozellulären Lage, könnte eine wichtige Bedeutung für die Pathogenese der Insulinresistenz haben, da das muskuläre Fett aufgrund der räumlichen Nähe sofort verfügbar ist, und so – beim Vorliegen einer Regulationsstörung der Lipolyse – die Entwicklung einer Insulinresistenz begünstigt. (S. Abb. 4-1)

Neuere Daten zeigen eine klare negative Korrelation zwischen dem muskulärem Fettgehalt und der Insulinsensitivität [75,76,97,99]. Jacob et al. und Krssak et al. beschreiben mit Hilfe der Magnet-Resonanz-Spektroskopie die Unterscheidung zwischen extra- und intramyozellulär gelegenen Lipiden [97,99], wobei gerade das intramyozelluläre Fett mit der Insulinsensitivität negativ korreliert. Dies ist besonders klar bei schlanken Personen nachweisbar, wo diese Beziehung unabhängig von die Insulinsensitivität beeinflussenden

Faktoren, wie Body Mass Index, Waist to Hip Ratio oder körperlicher Fitness ist [97,104].

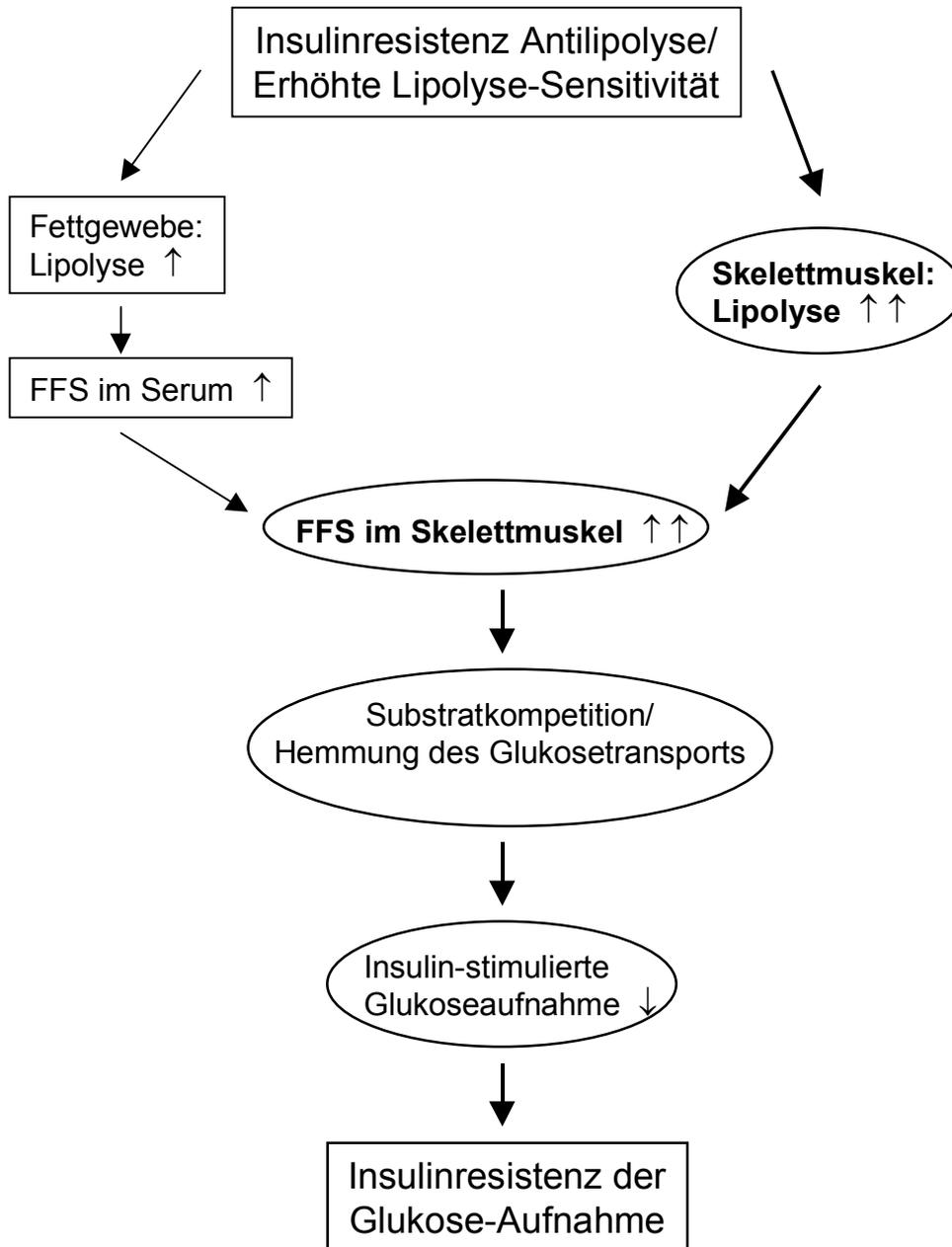


Abbildung 4-1: Effekte einer Störung der Regulation der Lipolyse im Skelettmuskel. (FFS: Freien Fettsäuren).

Trotz der viel geringeren Konzentration an Glycerol im Dialysat des M. tibialis ant. als im Fettgewebe, welche durch eine höhere Durchblutung in der

Muskulatur zu erklären ist, lässt die grosse Muskelmasse und der gleiche Ort von Produktion und Wirkung der Lipide den Schluss zu, dass besonders das muskuläre – und vielleicht das intramyozelluläre Fett an der Entstehung der Insulinresistenz beteiligt ist.

Die schnelle und unterschiedliche „Dis-Inhibition der Lipolyse“ nach Absinken der zirkulierenden Insulinspiegel dürfte im Alltag gerade für die späten postprandialen Phasen, in denen die Insulinspiegel wieder abfallen, von Bedeutung sein. Nach unseren Daten ist zu erwarten, dass die Lipolyse in den beiden Kompartimenten Fettgewebe und Skelettmuskel bei insulinresistenten Personen, welche auch eine höhere Konzentration an intramyozellulären Lipiden aufweisen, stärker ansteigen wird.

5 Zusammenfassung

In der Pathogenese des Typ 2 Diabetes spielen einerseits eine reduzierte Insulinsekretion des Pankreas und andererseits eine gestörte insulinabhängige Glukoseverwertung der Skelettmuskulatur eine wichtige Rolle. Man nimmt an, dass bei der Entwicklung der Insulinresistenz eine Dysregulation des Lipidstoffwechsels von besonderer Bedeutung ist. Diese Störung im Lipidstoffwechsel kann das Resultat einer vermehrten Lipolyse und/oder einer verminderten Insulin-vermittelten Antilipolyse sein.

Im Skelettmuskel lassen sich Lipidakkumulationen nachweisen. Somit könnte die Skelettmuskulatur als ein drittes Kompartiment der Fettverteilung neben dem viszeralen und subkutanen Fettgewebe angesehen werden.

Ziel dieser Arbeit war es zu überprüfen, ob das muskuläre Fett metabolisch aktiv ist, wie diese Lipide durch Insulin hormonell reguliert werden und ob Unterschiede zu dem subkutanen Fettgewebe existieren. Dabei war zusätzlich von besonderem Interesse, ob Unterschiede in der Regulation der Lipolyse bei Personen mit Insulinresistenz im Vergleich zu insulinsensiblen Personen vorhanden sind.

Um die Regulation und die Aktivität der Lipolyse bestimmen zu können, wurde die Methodik der Mikrodialyse-Technik eingesetzt und aus dem gewonnenen Dialysat Glyzerol unter standardisierten Bedingungen (vor, während und nach einem 3-Stufen-Glukose-Clamp) sowohl im Fettgewebe als auch in der Skelettmuskulatur bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen, dass die Lipolyse sowohl im Fettgewebe als auch im Skelettmuskel hormonell reguliert wird. Insulin hemmt die Lipolyse bei sehr niedrigen physiologischen Konzentrationen.

Weiterhin führt eine akute Reduktion der Insulinspiegel zu einer wieder schnell ansteigenden Lipolyse.

Bei Personen mit einer Insulinresistenz der Glukoseaufnahme wird eine verminderte Insulin-vermittelte Reduktion der Glycerolkonzentration im Fettgewebe und im Skelettmuskel gefunden. Diese ist in der Skelettmuskulatur verstärkt ausgeprägt, in der die Dosis-Wirkungskurve für die Insulin-vermittelte Antilipolyse nach rechts verschoben ist.

Die vorliegenden Daten beschreiben die Skelettmuskulatur als ein weiteres Kompartiment der Fettverteilung, welches sich am Lipidstoffwechsel metabolisch aktiv beteiligt und durch Insulin streng hormonell kontrolliert wird.

Bei Personen mit Insulinresistenz der Glukoseaufnahme lässt sich eine gestörte hormonelle Regulation des muskulären Fettes, im Sinne einer Insulinresistenz der Antilipolyse nachweisen.

Eine metabolische Störung der muskulären Lipolyse, welche mit der Insulinresistenz der Glukoseaufnahme assoziiert ist – und eine negative Korrelation zwischen intramuskulärem Fettgehalt und Insulinresistenz heben den hohen Stellenwert dieses neuen Fett-Kompartiments in Bezug auf die Pathogenese der gestörten Glukoseverwertung, wie der Insulinresistenz hervor.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, Byrd Holt DD.: Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care* 21:518-524, 1998
- [2] Sowers JR.: Insulin resistance, hyperinsulinemia, dyslipidemia, hypertension and accelerated arteriosclerosis. *J Clin Pharmacol* 32:529-535, 1992
- [3] DeFronzo RA and Ferrannini E.: Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14:173-194, 1991
- [4] Pyörälä K, Laakso M, Uusitupa M: Diabetes and arteriosclerosis: An epidemiologic view. *Diab Metabol Rev* 3:463-524, 1987
- [5] Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: The Framingham study. *Am J Med* 76:4-12, 1984
- [6] Bo Isomaa, MD, Peter Almgren, MSC, Tiinamaija Tuomi, MD, Bjo` Rnforse´N, MD, Kaj Lahti, MD, Michael Nisse ´N, MD, Marja-Riitta Taskinen, MD, Leif Groop, MD: Cardiovascular Morbidity and Mortality Associated With the Metabolic Syndrome *Diabetes Care* 24:683–689, 2001
- [7] Diabetes Study Group: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study *BMJ* 321:405–12, 2000
- [8] Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ*. 317:703-713, 1998
- [9] Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. : Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 339:229-234, 1998
- [10] Hanefeld M, Fischer S, Julius U, Schulze J, Schwanebeck U, Schmechel H, Ziegelasch HJ, Lindner J. : Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia* 39:1577-1583, 1996
- [11] Klimm HD, Jacob S, Schlageter S, Schmidt-Köppler D, Weber M, Scherer S, Volk A, Rett K, Renn W, Keller H, Weismann G, Augustin HJ, März W, Häring HU. : Impairment of glucose tolerance in survivors of myocardial infarction (MI) and in their first degree relatives (FDR). (Abstr.) *Diabetologia* 41:A193 1998
- [12] Eriksson J, Franssila Kallunki A, Ekstrand A, Saloranta C, Widen E, Schalin C, Groop L.: Early metabolic defects in persons at increased risk for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 321:337-343, 1989

- [13] Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK. : Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *JAMA* 263:2893-2898, 1990
- [14] Pyorala M, Miettinen H, Laakso M, Pyorala K. : Hyperinsulinemia predicts coronary heart disease risk in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Circulation* 98:398-404, 1998
- [15] Jacob S, Klimm HD, Saschin C, Krieger B. : Incidence of insulin resistance in peripheral arterial occlusive disease patients. Pilot study in a general medicine practice. *Fortschr. Med.* 113:293-296, 1995
- [16] Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 75:473-486, 1995
- [17] Kooner JS, Baliga RR, Wilding J, Crook D, Packard CJ, Banks LM, Peart S, Aitman TJ, Scott J. Abdominal obesity, impaired nonesterified fatty acid suppression, and insulin-mediated glucose disposal are early metabolic abnormalities in families with premature myocardial infarction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18:1021-1026, 1998
- [18] Beck Nielsen H and Groop LC. : Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 94:1714-1721, 1994
- [19] Ferrari P, Weidmann P, Shaw S, Giachino D, Riesen W, Allemann Y, Heynen G. : Altered insulin sensitivity, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. *Am. J. Med.* 91:589-596, 1991
- [20] Weir GC: Which comes first in non-insulin-dependent diabetes mellitus: insulin resistance or beta-cell failure? Both come first. *JAMA* 273:1878-1879, 1995
- [21] Groop LC, Widen E, Ferrannini E. : Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: errors of metabolism or of methods? *Diabetologia* 36:1326-1331, 1993
- [22] Häring HU: Pathogenesis of type II diabetes: are there common causes for insulin resistance and secretion failure? *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107:S17-S23, 1999
- [23] Baron AD, Brechtel Hook G, Johnson A, Hardin D. : Skeletal muscle blood flow. A possible link between insulin resistance and blood pressure. *Hypertension* 21:129-135, 1993
- [24] Del Prato S, Leonetti F, Simonson DC, Sheehan P, Matsuda M, DeFronzo RA. : Effect of sustained physiologic hyperinsulinaemia and hyperglycaemia on insulin secretion and insulin sensitivity in man. *Diabetologia* 37:1025-1035, 1994
- [25] DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. : Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 15:318-368, 1992
- [26] Volk A, Renn W, Overkamp D, Mehnert B, Maerker E, Jacob S, Balletshofer B, Häring HU, Rett K. : Insulin action and secretion in healthy, glucose tolerant first degree relatives of patients with type 2 diabetes mellitus. Influence of body weight. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 107:140-147, 1999

- [27] Pimenta W, Korytkowski M, Mitrakou A, Jenssen T, Yki Jarvinen H, Evron W, Dailey G, Gerich J. : Pancreatic beta-cell dysfunction as the primary genetic lesion in NIDDM. Evidence from studies in normal glucose-tolerant individuals with a first-degree NIDDM relative. *JAMA* 273:1855-1861, 1995
- [28] Martin BS, Warram JH, Krolewski AS, et al.. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: Results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 340:925-929, 1992
- [29] Jacob S, Augustin H-J, Dietze G-J : Quantifying insulin resistance: with special reference to the euglycaemic, hyperinsulinaemic glucose clamp technique. *diabetes NEWS*, volume 16, 4/1995
- [30] DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. : Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 237:E214-23, 1979
- [31] Stumvoll M and Jacob S. Multiple sites of insulin resistance: muscle, liver and adipose tissue. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 107:107-110, 1999
- [32] Delgado JMR, DeFeudis FV, Roth RH, Ryugo DK, Mitruka BM. Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch Int Pharmacodyn* 198:9-21, 1972
- [33] Ungerstedt U, Pycock C. Functional correlates of dopamine neurotransmission. *Bull Schweiz Akad Med Wiss* 1278:44-55, 1974
- [34] Lönnroth P: Microdialysis in adipose tissue and skeletal muscle. *Horm. Metab. Res.* 29:344-346, 1997
- [35] Lönnroth P, Smith U. Microdialysis--a novel technique for clinical investigations. *J Intern Med, Review May* 227(5):295-300, 1990
- [36] Lönnroth P, Jansson P-A, Smith U. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. *Am J Physiol* 253:E228-E231, 1987
- [37] Arner P: Techniques for the measurement of white adipose tissue metabolism: a practical guide. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 19:435-442, 1995
- [38] Wennlund A, Wahrenberg H, Hagstrom Toft E, Bolinder J, Arner P. : Lipolytic and cardiac responses to various forms of stress in humans. *Int. J. Sports Med.* 15:408-413, 1994
- [39] Reaven GM, Hollenbeck CB, Chen Y-DI. Relationship between glucose tolerance, insulin secretion, and insulin action in non-obese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *Diabetologia* 32:52-55, 1989
- [40] Bonadonna RC, Groop L, Kraemer N, Ferrannini E, Del Prato S, DeFronzo RA. Obesity and insulin resistance in humans: A dose-response study. *Metabolism* 39:452-459, 1990
- [41] Kolterman OG, Insel J, Saekow M, Olefsky JM. Mechanisms of insulin resistance in human obesity: Evidence for receptor and postreceptor defects. *J Clin Invest* 65:1272-1284, 1980

- [42] Haffner SM, Karhapaa P, Mykkanen L, Laakso M. : Insulin resistance, body fat distribution, and sex hormones in men. *Diabetes* 43:212-219, 1994
- [43] Haffner SM, Stern MP, Mitchell BD, Hazuda HP, Patterson JK. : Incidence of type II diabetes in Mexican Americans predicted by fasting insulin and glucose levels, obesity, and body-fat distribution. *Diabetes* 39:283-288, 1990
- [44] Ruderman N, Chisholm D, Pi-Sunyer X, Schneider S. : The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes* 47(5):699-713, 1998
- [45] Charles MA, Eschwege E, Thibault N, Claude JR, Warnet JM, Rosselin GE, Girard J, Balkau B. : The role of non-esterified fatty acids in the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects: results of the Paris Prospective Study. *Diabetologia* 40:1101-1106, 1997
- [46] Ferrannini E, Camastra S, Coppack SW, Fliser D, Golay A, Mitrakou A. : Insulin action and non-esterified fatty acids. The European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Proc. Nutr. Soc.* 56:753-761, 1997
- [47] Perseghin G, Ghosh S, Gerow K, Shulman GI. : Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents: a cross-sectional study. *Diabetes* 46:1001-1009, 1997
- [48] Saloranta C and Groop L. : Interactions between glucose and FFA metabolism in man. *Diabetes Metab. Rev.* 12:15-36, 1996
- [49] Paolisso G, Tataranni PA, Foley JE, Bogardus C, Howard BV, Ravussin E. : A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia* 38:1213-1217, 1995
- [50] Groop LC, Saloranta C, Shank M, Bonadonna RC, Ferrannini E, DeFronzo RA. : The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72:96-107, 1991
- [51] Paolisso G and Howard BV. : Role of non-esterified fatty acids in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 15:360-366, 1998
- [52] Byrne CD, Wareham NJ, Day NE, McLeish R, Williams DR, Hales CN. : Decreased non-esterified fatty acid suppression and features of the insulin resistance syndrome occur in a sub-group of individuals with normal glucose tolerance. *Diabetologia* 38:1358-1366, 1995
- [53] Chen YD, Golay A, Swislocki AL, Reaven GM. : Resistance to insulin suppression of plasma free fatty acid concentrations and insulin stimulation of glucose uptake in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64:17-21, 1987
- [54] Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. : The glucose-fatty acid cycle; its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1:784-789, 1963

- [55] Roden M, Krssak M, Stingl H, Gruber S, Hofer A, Fornsinn C, Moser E, Waldhausl W. : Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by free fatty acids in humans. *Diabetes* 48:358-364, 1999
- [56] Boden G: Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 46:3-10, 1997
- [57] Jucker BM, Rennings AJ, Cline GW, Shulman GI. : ¹³C and ³¹P NMR studies on the effects of increased plasma free fatty acids on intramuscular glucose metabolism in the awake rat. *J. Biol. Chem.* 272:10464-10473, 1997
- [58] Kim JK, Wi JK, Youn JH. : Plasma free fatty acids decrease insulin-stimulated skeletal muscle glucose uptake by suppressing glycolysis in conscious rats. *Diabetes* 45:446-453, 1996
- [59] Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. : Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J. Clin. Invest.* 97:2859-2865, 1996
- [60] Boden G and Chen X. : Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 96:1261-1268, 1995
- [61] Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. : Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J. Clin. Invest.* 93:2438-2446, 1994
- [62] Randle PJ, Priestman DA, Mistry SC, Halsall A. : Glucose fatty acid interactions and the regulation of glucose disposal. *J. Cell Biochem.* 55 Suppl:1-11, 1994
- [63] Bergman RN, Ader M. : Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 11(9):351-6, 2000
- [64] DeFronzo RA, Lilly lecture. The triumvirate: β -cell, muscle, liver: A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37:667-687, 1988
- [65] Oakes ND, Cooney GJ, Camilleri S, Chisholm DJ, Kraegen EW. : Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes* 46:1768-1774, 1997
- [66] Schmitz Peiffer C, Browne CL, Oakes ND, Watkinson A, Chisholm DJ, Kraegen EW, Biden TJ. : Alterations in the expression and cellular localization of protein kinase C isozymes epsilon and theta are associated with insulin resistance in skeletal muscle of the high-fat-fed rat. *Diabetes* 46:169-178, 1997
- [67] Storlien LH, Baur LA, Kriketos AD, Pan DA, Cooney GJ, Jenkins AB, Calvert GD, Campbell LV. : Dietary fats and insulin action. *Diabetologia* 39:621-631, 1996
- [68] Storlien LH, Kriketos AD, Jenkins AB, Baur LA, Pan DA, Tapsell LC, Calvert GD. : Does dietary fat influence insulin action? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 827:287-301, 1997
- [69] Mayer Davis EJ, Monaco JH, Hoen HM, Carmichael S, Vitolins MZ, Rewers MJ, Haffner SM, Ayad MF, Bergman RN, Karter AJ. : Dietary fat and insulin sensitivity in a triethnic population: the role of obesity. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Am. J. Clin. Nutr.* 65:79-87, 1997

- [70] O'Dea K: Marked improvement in carbohydrate and lipid metabolism in diabetic Australian aborigines after temporary reversion to traditional lifestyle. *Diabetes* 33:596-603, 1984
- [71] Falholt K, Jensen I, Lindkaer Jensen S, Mortensen H, Volund A, Heding LG, Noerskov Petersen P, Falholt W. : Carbohydrate and lipid metabolism of skeletal muscle in type 2 diabetic patients. *Diabet. Med.* 5:27-31, 1988
- [72] Falholt K, Hjelms E, Jensen I, Voelund A, Heding LG, Falholt W. : Intracellular metabolism in biopsies from the aorta in patients undergoing coronary bypass surgery. *Diabete. Metab.* 13:312-317, 1987
- [73] Paternostro G, Camici PG, Lammerstma AA, Marinho N, Baliga RR, Kooner JS, Radda GK, Ferrannini E. : Cardiac and skeletal muscle insulin resistance in patients with coronary heart disease. A study with positron emission tomography. *J. Clin. Invest.* 98:2094-2099, 1996
- [74] Goodpaster BH, Thaete FL, Simoneau JA, Kelley DE. : Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. *Diabetes* 46:1579-1585, 1997
- [75] Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, Jenkins AB, Storlien LH. : Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 46:983-988, 1997
- [76] Phillips DI, Caddy S, Ilic V, Fielding BA, Frayn KN, Borthwick AC, Taylor R. : Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. *Metabolism* 45:947-950, 1996
- [77] Wendling PS, Peters SJ, Heigenhauser GJ, Spriet LL. : Variability of triacylglycerol content in human skeletal muscle biopsy samples. *J. Appl. Physiol.* 81:1150-1155, 1996
- [78] Vuorinen-Markkola H, Koivisto VA, Yki-Järvinen H. Mechanism of hyperglycemia-induced insulin resistance in whole body and skeletal muscle of type 1 diabetic patients. *Diabetes* 41:571-580, 1992
- [79] Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE : Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol.* 240(6):E630-9, 1981
- [80] Ferrannini E and Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J. Hypertens.* 16:895-906, 1998
- [81] Thomas AE, McKay DA, Cutlip MB. A nomograph method for assessing body weight. *Am J Clin Nutr* 29:302-304, 1976
- [82] World Health Organization. Measuring obesity-classification and description of anthropometric data. Report on a WHO consultation on the epidemiology of obesity. WHO, Warsaw:2-7,1987

- [83] Hagstrom Toft E, Enoksson S, Moberg E, Bolinder J, Arner P. : Absolute concentrations of glycerol and lactate in human skeletal muscle, adipose tissue, and blood. *Am. J. Physiol.* 273:E584-92, 1997
- [84] Rosdahl H, Hamrin K, Ungerstedt U, Henriksson J. : Metabolite levels in human skeletal muscle and adipose tissue studied with microdialysis at low perfusion flow. *Am. J. Physiol.* 274:E936-45, 1998
- [85] Hagstrom Toft E, Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P. : A circadian rhythm in lipid mobilization which is altered in IDDM. *Diabetologia* 40:1070-1078, 1997
- [86] Hickner RC, Fisher JS, Kohrt WM. : Regional differences in interstitial glycerol concentration in subcutaneous adipose tissue of women. *Am. J. Physiol.* 273:E1033-8, 1997
- [87] Jansson PA, Veneman T, Nurjhan N, Gerich J. : An improved method to calculate adipose tissue interstitial substrate recovery for microdialysis studies. *Life Sci.* 54:1621-1624, 1994
- [88] Rosdahl H, Lind L, Millgard J, Lithell H, Ungerstedt U, Henriksson J. : Effect of physiological hyperinsulinemia on blood flow and interstitial glucose concentration in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis. *Diabetes* 47:1296-1301, 1998
- [89] Hickner RC, Bone D, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. : Muscle blood flow during intermittent exercise: comparison of the microdialysis ethanol technique and ¹³³Xe clearance. *Clin. Sci. Colch.* 86:15-25, 1994
- [90] Hickner RC, Rosdahl H, Borg I, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. : The ethanol technique of monitoring local blood flow changes in rat skeletal muscle: implications for microdialysis. *Acta Physiol. Scand.* 146:87-97, 1992
- [91] Hickner RC, Rosdahl H, Borg I, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. : Ethanol may be used with the microdialysis technique to monitor blood flow changes in skeletal muscle: dialysate glucose concentration is blood-flow-dependent. *Acta Physiol. Scand.* 143:355-356, 1991
- [92] Enoksson S, Degerman E, Hagstrom Toft E, Large V, Arner P. : Various phosphodiesterase subtypes mediate the in vivo antilipolytic effect of insulin on adipose tissue and skeletal muscle in man. *Diabetologia* 41:560-568, 1998
- [93] Maggs DG, Jacob R, Rife F, Lange R, Leone P, Durning MJ, Tamborlane WV, Sherwin RS. : Interstitial fluid concentrations of glycerol, glucose, and amino acids in human quadriceps muscle and adipose tissue. Evidence for significant lipolysis in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 96:370-377, 1995
- [94] Stumvoll M, Löblein K, Wahl HG, Renn W, Becker R, Hauer B, Arztner S, Grauer P, Häring H, Jacob S. : Differential regulation of systemic, subcutaneous adipose tissue and intramuscular lipolysis in man. (Abstr.) *Diabetologia* 42: 1999
- [95] Moberg E, Arner P, Hagstrom Toft E, Bolinder J. : Different metabolic response of adipose tissue and skeletal muscle to insulin in vivo. (Abstr.) *Diabetologia* 42: 1999

- [96] Jacob S, Hauer B, Becker R, Arztner S, Grauer P, Löblein K, Nielsen M, Renn W, Rett K, Wahl HG, Stumvoll M, Häring H-U. : Lipolysis in skeletal muscle is rapidly regulated by low physiological doses of insulin. *Diabetologia* 42:1171-1174, 1999
- [97] Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, Maerker E, Matthaei S, Schick F, Claussen CD, Häring H-U. : Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean non-diabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 48:1113-1119, 1999
- [98] Eriksson JW, Smith U, Waagstein F, Wysocki M, Jansson PA. : Glucose turnover and adipose tissue lipolysis are insulin-resistant in healthy relatives of type 2 diabetes patients: is cellular insulin resistance a secondary phenomenon? *Diabetes* 48:1572-1578, 1999
- [99] Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Shulman GI, Roden M. : Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ^1H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 42:113-116, 1999
- [100] Griffin BA, Marcucci M, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goddard L, Kraegen EW, White MF, Shulman GI. : Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C θ and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 48:1270-1274, 1999
- [101] Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI. : Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Invest.* 103:253-259, 1999
- [102] Nuutila P, Koivisto VA, Knuuti J, Ruotsalainen U, Teras M, Haaparanta M, Bergman J, Solin O, Voipio Pulkki LM, Wegelius U, et al. : Glucose-free fatty acid cycle operates in human heart and skeletal muscle in vivo. *J. Clin. Invest.* 89:1767-1774, 1992
- [103] Pan DA, Lillioja S, Milner MR, Kriketos AD, Baur LA, Bogardus C, Storlien LH. : Skeletal muscle membrane lipid composition is related to adiposity and insulin action. *J. Clin. Invest.* 96:2802-2808, 1995
- [104] Goodpaster BH, Kelley DE. Role of muscle in triglyceride metabolism. *Curr Opin Lipidol. Review* Jun;9(3):231-236, 1998
- [105] Raitakari M, Nuutila P, Ruotsalainen U, Laine H, Teräs M, Lida H, Makimattila S, Utriainen T, Oikonen V, Sipilä H, Haaparanta M, Solin O, Wegelius U, Knuuti J, Yki-Järvinen H : Evidence for dissociation of insulin stimulation of blood flow and glucose uptake in human skeletal muscle: Studies using ^{15}O H_2O , ^{18}F fluoro-2-deoxy-D-glucose, and positron emission tomography. *Diabetes* 45:1471-1477, 1996
- [106] Nuutila P, Raitakari M, Laine H, Kirvelä O, Takala T, Utriainen T, Makimattila S, Pitkänen OP, Ruotsalainen U, Lida H, Knuuti J, Yki-Järvinen H : Role of blood flow in regulating insulin-stimulated glucose uptake in humans: Studies using bradykinin, ^{15}O water, and ^{18}F fluoro-deoxy-glucose and positron emission tomography. *J. Clin. Invest.* 97:1741-1747, 1996

Literaturverzeichnis alphabetisch geordnet

[37] Arner P: Techniques for the measurement of white adipose tissue metabolism: a practical guide. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 19:435-442, 1995

[23] Baron AD, Brechtel Hook G, Johnson A, Hardin D. : Skeletal muscle blood flow. A possible link between insulin resistance and blood pressure. *Hypertension* 21:129-135, 1993

[18] Beck Nielsen H and Groop LC. : Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 94:1714-1721, 1994

[63] Bergman RN, Ader M. : Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab.* 11(9):351-6, 2000

[56] Boden G: Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 46:3-10, 1997

[60] Boden G and Chen X. : Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 96:1261-1268, 1995

[61] Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. : Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J. Clin. Invest.* 93:2438-2446, 1994

[40] Bonadonna RC, Groop L, Kraemer N, Ferrannini E, Del Prato S, DeFronzo RA. Obesity and insulin resistance in humans: A dose-response study. *Metabolism* 39:452-459, 1990

[52] Byrne CD, Wareham NJ, Day NE, McLeish R, Williams DR, Hales CN. : Decreased non-esterified fatty acid suppression and features of the insulin resistance syndrome occur in a sub-group of individuals with normal glucose tolerance. *Diabetologia* 38:1358-1366, 1995

[5] Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: The Framingham study. *Am J Med* 76:4-12, 1984

[45] Charles MA, Eschwege E, Thibault N, Claude JR, Warnet JM, Rosselin GE, Girard J, Balkau B. : The role of non-esterified fatty acids in the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects: results of the Paris Prospective Study. *Diabetologia* 40:1101-1106, 1997

[53] Chen YD, Golay A, Swislocki AL, Reaven GM. : Resistance to insulin suppression of plasma free fatty acid concentrations and insulin stimulation of glucose uptake in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 64:17-21, 1987

[32] Delgado JMR, DeFeudis FV, Roth RH, Ryugo DK, Mitruka BM. Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. *Arch Int Pharmacodyn* 198:9-21, 1972

[24] Del Prato S, Leonetti F, Simonson DC, Sheehan P, Matsuda M, DeFronzo RA. : Effect of sustained physiologic hyperinsulinaemia and hyperglycaemia on insulin secretion and insulin sensitivity in man. *Diabetologia* 37:1025-1035, 1994

[25] DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. : Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care* 15:318-368, 1992

[3] DeFronzo RA and Ferrannini E.: Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 14:173-194, 1991

[64] DeFronzo RA, Lilly lecture. The triumvirate: β -cell, muscle, liver: A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37:667-687, 1988

[30] DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. : Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 237:E214-23, 1979

[7] Diabetes Study Group: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study *BMJ* 321:405-12, 2000

[101] Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI. : Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Invest.* 103:253-259, 1999

[92] Enoksson S, Degerman E, Hagstrom Toft E, Large V, Arner P. : Various phosphodiesterase subtypes mediate the in vivo antilipolytic effect of insulin on adipose tissue and skeletal muscle in man. *Diabetologia* 41:560-568, 1998

[98] Eriksson JW, Smith U, Waagstein F, Wysocki M, Jansson PA. : Glucose turnover and adipose tissue lipolysis are insulin-resistant in healthy relatives of type 2 diabetes patients: is cellular insulin resistance a secondary phenomenon? *Diabetes* 48:1572-1578, 1999

[12] Eriksson J, Franssila Kallunki A, Ekstrand A, Saloranta C, Widen E, Schalin C, Groop L.: Early metabolic defects in persons at increased risk for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 321:337-343, 1989

[71] Falholt K, Jensen I, Lindkaer Jensen S, Mortensen H, Volund A, Heding LG, Noerskov Petersen P, Falholt W. : Carbohydrate and lipid metabolism of skeletal muscle in type 2 diabetic patients. *Diabet. Med.* 5:27-31, 1988

[72] Falholt K, Hjelms E, Jensen I, Voelund A, Heding LG, Falholt W. : Intracellular metabolism in biopsies from the aorta in patients undergoing coronary bypass surgery. *Diabete. Metab.* 13:312-317, 1987

[80] Ferrannini E and Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J. Hypertens.* 16:895-906, 1998

[46] Ferrannini E, Camastra S, Coppack SW, Fliser D, Golay A, Mitrakou A. : Insulin action and non-esterified fatty acids. The European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Proc. Nutr. Soc.* 56:753-761, 1997

[19] Ferrari P, Weidmann P, Shaw S, Giachino D, Riesen W, Allemann Y, Heynen G. : Altered insulin sensitivity, hyperinsulinemia, and dyslipidemia in individuals with a hypertensive parent. *Am. J. Med.* 91:589-596, 1991

- [104] Goodpaster BH, Kelley DE. Role of muscle in triglyceride metabolism. *Curr Opin Lipidol. Review Jun;9(3):231-236, 1998*
- [74] Goodpaster BH, Thaete FL, Simoneau JA, Kelley DE. : Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. *Diabetes 46:1579-1585, 1997*
- [100] Griffin BA, Marcucci M, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, Goddyear L, Kraegen EW, White MF, Shulman GI. : Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes 48:1270-1274, 1999*
- [21] Groop LC, Widen E, Ferrannini E. : Insulin resistance and insulin deficiency in the pathogenesis of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: errors of metabolism or of methods? *Diabetologia 36:1326-1331, 1993*
- [50] Groop LC, Saloranta C, Shank M, Bonadonna RC, Ferrannini E, DeFronzo RA. : The role of free fatty acid metabolism in the pathogenesis of insulin resistance in obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab. 72:96-107, 1991*
- [22] Häring HU: Pathogenesis of type II diabetes: are there common causes for insulin resistance and secretion failure? *Exp Clin Endocrinol Diabetes 107:S17-S23, 1999*
- [9] Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. : Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N. Engl. J. Med. 339:229-234, 1998*
- [42] Haffner SM, Karhapaa P, Mykkanen L, Laakso M. : Insulin resistance, body fat distribution, and sex hormones in men. *Diabetes 43:212-219, 1994*
- [43] Haffner SM, Stern MP, Mitchell BD, Hazuda HP, Patterson JK. : Incidence of type II diabetes in Mexican Americans predicted by fasting insulin and glucose levels, obesity, and body-fat distribution. *Diabetes 39:283-288, 1990*
- [13] Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK. : Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *JAMA 263:2893-2898, 1990*
- [83] Hagstrom Toft E, Enoksson S, Moberg E, Bolinder J, Arner P. : Absolute concentrations of glycerol and lactate in human skeletal muscle, adipose tissue, and blood. *Am. J. Physiol. 273:E584-92, 1997*
- [85] Hagstrom Toft E, Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P. : A circadian rhythm in lipid mobilization which is altered in IDDM. *Diabetologia 40:1070-1078, 1997*
- [10] Hanefeld M, Fischer S, Julius U, Schulze J, Schwanebeck U, Schmechel H, Ziegelasch HJ, Lindner J. : Risk factors for myocardial infarction and death in newly detected NIDDM: the Diabetes Intervention Study, 11-year follow-up. *Diabetologia 39:1577-1583, 1996*
- [1] Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, Byrd Holt DD.: Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and

impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care* 21:518-524, 1998

[86] Hickner RC, Fisher JS, Kohrt WM. : Regional differences in interstitial glycerol concentration in subcutaneous adipose tissue of women. *Am. J. Physiol.* 273:E1033-8, 1997

[89] Hickner RC, Bone D, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. : Muscle blood flow during intermittent exercise: comparison of the microdialysis ethanol technique and ¹³³Xe clearance. *Clin. Sci. Colch.* 86:15-25, 1994

[90] Hickner RC, Rosdahl H, Borg I, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. : The ethanol technique of monitoring local blood flow changes in rat skeletal muscle: implications for microdialysis. *Acta Physiol. Scand.* 146:87-97, 1992

[91] Hickner RC, Rosdahl H, Borg I, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. : Ethanol may be used with the microdialysis technique to monitor blood flow changes in skeletal muscle: dialysate glucose concentration is blood-flow-dependent. *Acta Physiol. Scand.* 143:355-356, 1991

[6] Bo Isomaa, MD, Peter Almgren, MSC, Tiinamaija Tuomi, MD, Bjo" Rnforse´N, MD, Kaj Lahti, MD, Michael Nisse ´N, MD, Marja-Riitta Taskinen, MD, Leif Groop, MD: Cardiovascular Morbidity and Mortality Associated With the Metabolic Syndrome *Diabetes Care* 24:683–689, 2001

[96] Jacob S, Hauer B, Becker R, Arztner S, Grauer P, Löblein K, Nielsen M, Renn W, Rett K, Wahl HG, Stumvoll M, Häring H-U. : Lipolysis in skeletal muscle is rapidly regulated by low physiological doses of insulin. *Diabetologia* 42:1171-1174, 1999

[97] Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, Maerker E, Matthaei S, Schick F, Claussen CD, Häring H-U. : Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean non-diabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 48:1113-1119, 1999

[15] Jacob S, Klimm HD, Saschin C, Krieger B. : Incidence of insulin resistance in peripheral arterial occlusive disease patients. Pilot study in a general medicine practice. *Fortschr. Med.* 113:293-296, 1995

[29] Jacob S, Augustin H-J, Dietze G-J : Quantifying insulin resistance: with special reference to the euglycaemic, hyperinsulinaemic glucose clamp technique. *diabetes NEWS*, volume 16, 4/1995

[87] Jansson PA, Veneman T, Nurjhan N, Gerich J. : An improved method to calculate adipose tissue interstitial substrate recovery for microdialysis studies. *Life Sci.* 54:1621-1624, 1994

[57] Jucker BM, Rennings AJ, Cline GW, Shulman GI. : ¹³C and ³¹P NMR studies on the effects of increased plasma free fatty acids on intramuscular glucose metabolism in the awake rat. *J. Biol. Chem.* 272:10464-10473, 1997

[58] Kim JK, Wi JK, Youn JH. : Plasma free fatty acids decrease insulin-stimulated skeletal muscle glucose uptake by suppressing glycolysis in conscious rats. *Diabetes* 45:446-453, 1996

[11] Klimm HD, Jacob S, Schlageter S, Schmidt-Köppler D, Weber M, Scherer S, Volk A, Rett K, Renn W, Keller H, Weismann G, Augustin HJ, März W, Häring HU. : Impairment of glucose tolerance in survivors of myocardial infarction (MI) and in their first degree relatives (FDR). (Abstr.) *Diabetologia* 41:A193 1998

[41] Kolterman OG, Insel J, Saekow M, Olefsky JM. Mechanisms of insulin resistance in human obesity: Evidence for receptor and postreceptor defects. *J Clin Invest* 65:1272-1284, 1980

[17] Kooner JS, Baliga RR, Wilding J, Crook D, Packard CJ, Banks LM, Peart S, Aitman TJ, Scott J. Abdominal obesity, impaired nonesterified fatty acid suppression, and insulin-mediated glucose disposal are early metabolic abnormalities in families with premature myocardial infarction. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18:1021-1026, 1998

[99] Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Shulman GI, Roden M. : Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study. *Diabetologia* 42:113-116, 1999

[34] Lönnroth P: Microdialysis in adipose tissue and skeletal muscle. *Horm. Metab. Res.* 29:344-346, 1997

[35] Lönnroth P, Smith U. Microdialysis--a novel technique for clinical investigations. *J Intern Med*, Review May 227(5):295-300, 1990

[36] Lönnroth P, Jansson P-A, Smith U. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. *Am J Physiol* 253:E228-E231, 1987

[93] Maggs DG, Jacob R, Rife F, Lange R, Leone P, During MJ, Tamborlane WV, Sherwin RS. : Interstitial fluid concentrations of glycerol, glucose, and amino acids in human quadriceps muscle and adipose tissue. Evidence for significant lipolysis in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 96:370-377, 1995

[28] Martin BS, Warram JH, Krolewski AS, et al.. Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: Results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 340:925-929, 1992

[69] Mayer Davis EJ, Monaco JH, Hoen HM, Carmichael S, Vitolins MZ, Rewers MJ, Haffner SM, Ayad MF, Bergman RN, Karter AJ. : Dietary fat and insulin sensitivity in a triethnic population: the role of obesity. The Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Am. J. Clin. Nutr.* 65:79-87, 1997

[95] Moberg E, Arner P, Hagstrom Toft E, Bolinder J. : Different metabolic response of adipose tissue and skeletal muscle to insulin in vivo. (Abstr.) *Diabetologia* 42; 1999

[106] Nuutila P, Raitakari M, Laine H, Kirvelä O, Takala T, Utriainen T, Makimattila S, Pitkänen OP, Ruotsalainen U, Lida H, Knuuti J, Yki-Järvinen H : Role of blood flow in regulating insulin-stimulated glucose uptake in humans: Studies using bradykinin, [¹⁵O]water, and [¹⁸F]fluoro-deoxy-glucose and positron emission tomography. *J. Clin. Invest.* 97:1741-1747, 1996

[102] Nuutila P, Koivisto VA, Knuuti J, Ruotsalainen U, Teras M, Haaparanta M, Bergman J, Solin O, Voipio Pulkki LM, Wegelius U, et al. : Glucose-free fatty acid cycle

operates in human heart and skeletal muscle in vivo. *J. Clin. Invest.* 89:1767-1774, 1992

[65] Oakes ND, Cooney GJ, Camilleri S, Chisholm DJ, Kraegen EW. : Mechanisms of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding. *Diabetes* 46:1768-1774, 1997

[70] O'Dea K: Marked improvement in carbohydrate and lipid metabolism in diabetic Australian aborigines after temporary reversion to traditional lifestyle. *Diabetes* 33:596-603, 1984

[75] Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, Jenkins AB, Storlien LH. : Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. *Diabetes* 46:983-988, 1997

[103] Pan DA, Lillioja S, Milner MR, Kriketos AD, Baur LA, Bogardus C, Storlien LH. : Skeletal muscle membrane lipid composition is related to adiposity and insulin action. *J. Clin. Invest.* 96:2802-2808, 1995

[51] Paolisso G and Howard BV. : Role of non-esterified fatty acids in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 15:360-366, 1998

[49] Paolisso G, Tataranni PA, Foley JE, Bogardus C, Howard BV, Ravussin E. : A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty acids is a risk factor for the development of NIDDM. *Diabetologia* 38:1213-1217, 1995

[73] Paternostro G, Camici PG, Lammerstma AA, Marinho N, Baliga RR, Kooner JS, Radda GK, Ferrannini E. : Cardiac and skeletal muscle insulin resistance in patients with coronary heart disease. A study with positron emission tomography. *J. Clin. Invest.* 98:2094-2099, 1996

[47] Perseghin G, Ghosh S, Gerow K, Shulman GI. : Metabolic defects in lean nondiabetic offspring of NIDDM parents: a cross-sectional study. *Diabetes* 46:1001-1009, 1997

[76] Phillips DI, Caddy S, Ilic V, Fielding BA, Frayn KN, Borthwick AC, Taylor R. : Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: evidence for a relationship in nondiabetic subjects. *Metabolism* 45:947-950, 1996

[27] Pimenta W, Korytkowski M, Mitrakou A, Jenssen T, Yki Jarvinen H, Evron W, Dailey G, Gerich J. : Pancreatic beta-cell dysfunction as the primary genetic lesion in NIDDM. Evidence from studies in normal glucose-tolerant individuals with a first-degree NIDDM relative. *JAMA* 273:1855-1861, 1995

[4] Pyörälä K, Laakso M, Uusitupa M: Diabetes and arteriosclerosis: An epidemiologic view. *Diab Metabol Rev* 3:463-524, 1987

[14] Pyorala M, Miettinen H, Laakso M, Pyorala K. : Hyperinsulinemia predicts coronary heart disease risk in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Circulation* 98:398-404, 1998

[105] Raitakari M, Nuutila P, Ruotsalainen U, Laine H, Teräs M, Lida H, Makimattila S, Utriainen T, Oikonen V, Sipilä H, Haaparanta M, Solin O, Wegelius U, Knuuti J, Yki-

Järvinen H : Evidence for dissociation of insulin stimulation of blood flow and glucose uptake in human skeletal muscle: Studies using [¹⁵O]H₂O, [¹⁸F]fluoro-2-deoxy-D-glucose, and positron emission tomography. *Diabetes* 45:1471-1477, 1996

[62] Randle PJ, Priestman DA, Mistry SC, Halsall A. : Glucose fatty acid interactions and the regulation of glucose disposal. *J. Cell Biochem.* 55 Suppl:1-11, 1994

[54] Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. : The glucose-fatty acid cycle; its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1:784-789, 1963

[16] Reaven GM, Lithell H, Landsberg L. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* 75:473-486, 1995

[39] Reaven GM, Hollenbeck CB, Chen Y-DI. Relationship between glucose tolerance, insulin secretion, and insulin action in non-obese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *Diabetologia* 32:52-55, 1989

[79] Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE : Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am J Physiol.* 240(6):E630-9, 1981

[55] Roden M, Krssak M, Stingl H, Gruber S, Hofer A, Fornsinn C, Moser E, Waldhausl W. : Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by free fatty acids in humans. *Diabetes* 48:358-364, 1999

[59] Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. : Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J. Clin. Invest.* 97:2859-2865, 1996

[84] Rosdahl H, Hamrin K, Ungerstedt U, Henriksson J. : Metabolite levels in human skeletal muscle and adipose tissue studied with microdialysis at low perfusion flow. *Am. J. Physiol.* 274:E936-45, 1998

[88] Rosdahl H, Lind L, Millgard J, Lithell H, Ungerstedt U, Henriksson J. : Effect of physiological hyperinsulinemia on blood flow and interstitial glucose concentration in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis. *Diabetes* 47:1296-1301, 1998

[44] Ruderman N, Chisholm D, Pi-Sunyer X, Schneider S. : The metabolically obese, normal-weight individual revisited. *Diabetes* 47(5):699-713, 1998

[48] Saloranta C and Groop L. : Interactions between glucose and FFA metabolism in man. *Diabetes Metab. Rev.* 12:15-36, 1996

[66] Schmitz Peiffer C, Browne CL, Oakes ND, Watkinson A, Chisholm DJ, Kraegen EW, Biden TJ. : Alterations in the expression and cellular localization of protein kinase C isozymes epsilon and theta are associated with insulin resistance in skeletal muscle of the high-fat-fed rat. *Diabetes* 46:169-178, 1997

[2] Sowers JR.: Insulin resistance, hyperinsulinemia, dyslipidemia, hypertension and accelerated arteriosclerosis. *J Clin Pharmacol* 32:529-535, 1992

- [68] Storlien LH, Kriketos AD, Jenkins AB, Baur LA, Pan DA, Tapsell LC, Calvert GD. : Does dietary fat influence insulin action? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 827:287-301, 1997
- [67] Storlien LH, Baur LA, Kriketos AD, Pan DA, Cooney GJ, Jenkins AB, Calvert GD, Campbell LV. : Dietary fats and insulin action. *Diabetologia* 39:621-631, 1996
- [31] Stumvoll M and Jacob S. Multiple sites of insulin resistance: muscle, liver and adipose tissue. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 107:107-110, 1999
- [94] Stumvoll M, Löblein K, Wahl HG, Renn W, Becker R, Hauer B, Arztner S, Grauer P, Häring H, Jacob S. : Differential regulation of systemic, subcutaneous adipose tissue and intramuscular lipolysis in man. (Abstr.) *Diabetologia* 42: 1999
- [81] Thomas AE, McKay DA, Cutlip MB. A nomograph method for assessing body weight. *Am J Clin Nutr* 29:302-304, 1976
- [8] Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ.* 317:703-713, 1998
- [33] Ungerstedt U, Pycock C. Functional correlates of dopamine neurotransmission. *Bull Schweiz Akad Med Wiss* 1278:44-55, 1974
- [26] Volk A, Renn W, Overkamp D, Mehnert B, Maerker E, Jacob S, Balletshofer B, Häring HU, Rett K. : Insulin action and secretion in healthy, glucose tolerant first degree relatives of patients with type 2 diabetes mellitus. Influence of body weight. *Exp. Clin. Endocrinol. Diab.* 107:140-147, 1999
- [78] Vuorinen-Markkola H, Koivisto VA, Yki-Järvinen H. Mechanism of hyperglycemia-induced insulin resistance in whole body and skeletal muscle of type 1 diabetic patients. *Diabetes* 41:571-580, 1992
- [20] Weir GC: Which comes first in non-insulin-dependent diabetes mellitus: insulin resistance or beta-cell failure? Both come first. *JAMA* 273:1878-1879, 1995
- [77] Wendling PS, Peters SJ, Heigenhauser GJ, Spriet LL. : Variability of triacylglycerol content in human skeletal muscle biopsy samples. *J. Appl. Physiol.* 81:1150-1155, 1996
- [38] Wennlund A, Wahrenberg H, Hagstrom Toft E, Bolinder J, Arner P. : Lipolytic and cardiac responses to various forms of stress in humans. *Int. J. Sports Med.* 15:408-413, 1994
- [82] World Health Organization. Measuring obesity-classification and description of anthropometric data. Report on a WHO consultation on the epidemiology of obesity. WHO, Warsaw:2-7,1987

Danksagung

Diese Arbeit wäre ohne den Beistand und die Hilfe von vielen Freunden nicht möglich gewesen. Ihr habt mich mit Freude, Motivation und Mitgefühl durch die Zeit meiner ersten wissenschaftlichen Forschung getragen.

Zwei Personen möchte ich meinen besonderen Dank aussprechen.

Meine Freundin Katja begleitet mich seit dem Beginn der Dissertation und hat auch manchmal gelitten, wenn ich die Prioritäten einmal anders gesetzt habe. Ich danke Ihr, dass Sie mit Ihrer Liebe jederzeit hinter mir stand und mir so Tag für Tag Halt gegeben hat.

Der zweite besondere Dank ist an meinen Doktorvater Stephan Jacob gerichtet. Er ermöglichte mir den Einblick in die Forschung mit Leib und Seele. Es ist schade, dass nicht alle Mediziner mit so viel Begeisterung, Ehrlichkeit und Souveränität wie Er sie besitzt den Alltag meistern.

Vielen weiteren Menschen aus der Uniklinik Tübingen, aus meinem Semester und meinem Freundeskreis möchte ich herzlich danken. Mit Ihnen habe ich diskutiert, gelacht, protokolliert, getrunken, gemessen und eine wundervolle Zeit verbracht.

Lebenslauf

Geburtstag

Bastian Hauer, geboren am 24. Juni 1974 in Bad Säckingen

Ausbildungen

Von 1980 bis 1984 Besuch der Grundschule in St. Georgen

Von 1984 bis 1993 Besuch des Gymnasiums in St. Georgen

Im Mai 1993 Schulabschluss mit der Allgemeinen Hochschulreife

Von Juli 1993 bis September 1994 Zivildienst beim Roten Kreuz in Radolfzell mit der Ausbildung zum Rettungssanitäter

Im Herbst 1994 Beginn des medizinischen Studiums an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Im September 1996 Ärztliche Vorprüfung

Im März 1997 Famulatur in einer privaten Praxis für Innere Medizin in Radolfzell

Im September 1997 Erstes Staatsexamen

Von Oktober 1997 bis Februar 1998 Famulaturen in Kingston, New York in den Fächern Anästhesie, Chirurgie und "family practice"

Im März 2000 Zweites Staatsexamen

Von April 2000 bis März 2001 Praktisches Jahr:

Erstes Tertial an der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen in der Abteilung für Endokrinologie und auf der medizinischen Intensivstation

Zweites Tertial am Downtown Hospital der New York University in New York City im Fach Chirurgie

Drittes Tertial am Stadtspital Triemli in Zürich im Fach Anästhesie

Abschluss des Medizinstudiums mit dem Dritten Staatsexamen im Mai 2001

Von Juni 2001 bis November 2002 Arzt im Praktikum in der Abteilung für Anaesthesiologie und operative Intensivmedizin an der Kreisklinik München-Pasing

Seit Dezember 2002 Assistenzarzt in der Klinik für Anaesthesiologie, Intensivmedizin und Schmerztherapie des Klinikums der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main