

**Aus der medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
(Departement) Tübingen
(Schwerpunkte: Endokrinologie und Diabetologie, Angiologie,
Nephrologie und Klinische Chemie)
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H.-U. Häring**

Einfluss freier Fettsäuren auf die Insulinsekretion beim Menschen

**Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Mirjam Elisabeth Steigenberger**

aus

Stuttgart-Bad Cannstatt

2008

Inhaltsverzeichnis

Dekan: **Prof. Dr. I. B. Autenrieth**

1.Berichterstatter: **Prof. Dr. A. Fritsche**

2.Berichterstatter: **Professor Dr. R. Hehrmann**

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Diabetes Mellitus Typ 2	1
1.2. Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2	2
1.2.1. Metabolisches Syndrom	2
1.2.2. Umwelt	2
1.2.3. Diabetes-Gene	3
1.2.4. Insulinsynthese und -Wirkung	3
1.2.5. Insulinresistenz	4
1.2.6. Normale- und gestörte Insulinsekretion.....	6
1.2.7. Steigerung der hepatischen Glukoneogenese	7
1.2.8. Verminderte Glukoseaufnahme und -Verwertung im Muskel	7
1.2.9. Erhöhter Serumglukosespiegel	8
1.2.10. Lipolyse	8
1.3. Freie Fettsäuren	9
1.3.1. Rolle der Freien FS bei der Entstehung des Diabetes mellitus	9
1.3.1.1. Freie Fettsäuren und Insulinresistenz.....	9
1.3.1.2. Freie Fettsäuren und Insulinsekretion.....	10
1.3.1.3. Mögliche Mechanismen der Lipotoxizität	12
a) Randle-Zyklus	12
b) Lipidsignale: Malonyl-CoA und langkettiges Acyl-CoA.....	12
c) Apoptose	14
d) Peroxisom Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)	14
e) Uncoupling Protein 2 (UCP2).....	14
f) Oxidativer Stress.....	15
g) Chemische Eigenschaften der Fettsäuren	15
1.4. Fragestellung und Zielsetzung	16
2. Probanden, Material und Methoden	17
2.1. Probanden	17
2.1.1. Einschlusskriterien	18
2.1.2. Ausschlusskriterien	18

Inhaltsverzeichnis

2.2. Material	18
2.2.1. Blutentnahmen und OGTT	18
2.3. Methoden	19
2.3.1. Versuchsvorbereitung und Testbedingungen	19
2.3.2. Versuchsablauf	19
2.3.2.1. OGTT	19
2.3.2.2. Bestimmung des BMI	21
2.3.2.3. Bestimmung der WHR	21
2.3.2.4. Bestimmung des Körperfettgehaltes	22
2.3.3. Probenverarbeitung	23
2.3.3.1. Blutglukose	23
2.3.3.2. Insulin	25
2.3.3.3. C-Peptid	25
2.3.3.4. Im Zentrallabor der Uni Tübingen durchgeführte Bestimmungen zum Fettstoffwechsel	26
a) Triglyceride	26
b) Cholesterin	26
c) Freie Fettsäuren	27
d) Adiponektin und Leptin	27
2.3.4. Berechnungen	28
2.3.4.1. Insulinsensitivitätsindex (Matsuda-Index)	28
2.3.4.2. Insulinsekretion	28
2.3.4.3. Disposition Index	29
2.3.5. Statistische Auswertung	29
3. Ergebnisse	30
3.1. Querschnittsanalyse	30
3.1.1. Probanden der OGTT-Querschnittsanalyse	30
3.1.2. Anthropometrische Daten	30
3.1.3. Metabolische Daten	30
3.1.4. Multivariate Korrelation freier FS mit der Insulinsekretion	33
3.2. Längsschnittanalyse	35
3.2.1. Erstuntersuchung (baseline) der Gesamtgruppe NGT + IGT	35

Inhaltsverzeichnis

3.2.2. Stoffwechselveränderungen zwischen Erst- und Folge-Untersuchung (follow-up).....	36
3.2.2.1. Veränderung des BMI.....	37
3.2.2.2. Veränderung des prozentualen Körperfettgehaltes	37
3.2.2.3. Veränderung der freien Fettsäuren.....	38
3.2.2.4. Veränderung der ersten Phase der Insulinsekretion.....	38
3.2.2.5. Veränderung des Insulinsensitivitätsindex.....	39
3.2.2.6. Veränderung des Disposition-Index.....	39
3.2.2.7. Veränderung der Nüchternplasmaglukose	40
3.2.2.8. Veränderung der postprandialen Plasmaglukose	40
3.2.3. Nüchtern Plasmaspiegel freier Fettsäuren als Prädiktor für die Änderung der Insulinsekretion.....	42
3.2.3.1. Multivariate Korrelation in der Gesamtgruppe.....	42
3.2.3.2. Multivariate Korrelation: Einzelgruppen NGT und IGT.....	44
4. Diskussion	47
4.1. Querschnittsanalyse.....	47
4.1.1. Zusammenhang des Plasmaspiegels freier Fettsäuren im Nüchternzustand mit der ersten Phase der Insulinsekretion	47
4.2. Längsschnittanalyse	499
4.2.1. Veränderung anthropometrischer und metabolischer Parameter bei der Lebensstilintervention.....	499
4.2.2. Nüchternspiegel der freien Fettsäuren als Prädiktor für die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion.....	51
4.3. Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2: Zeitlicher Verlauf	52
4.4. Indikation einer Pharmakotherapie	55
4.4.1. Behandlungs- und Präventionsmöglichkeiten bei IGT und erhöhten nüchtern freien Fettsäuren.....	56
4.4.1.1. Lebensstilintervention	56
4.4.1.2. Kurzzeitige Insulintherapie.....	56
4.4.1.3. Biguanide.....	57
4.4.1.4. PPARgamma-Rezeptoragonisten (Glitazone)	57
4.4.1.5. GLP-1-Rezeptoragonisten (Inkretinanaloga)	58

Inhaltsverzeichnis

4.4.1.6. Nikotinsäurederivate	59
4.4.2. Schlussfolgerung und Ausblick	60
5. Zusammenfassung	61
6. Anhang	63
6.1. Literaturverzeichnis.....	63
6.2. Abkürzungsverzeichnis.....	77
6.3. Tabellenverzeichnis.....	80
6.4. Abbildungsverzeichnis.....	81
6.5. Normwertetabelle.....	83
6.6. Danksagung.....	86
6.7. Lebenslauf.....	87

1. Einleitung

1.1. Diabetes Mellitus Typ 2

Man sieht den derzeit rasanten Anstieg des Diabetes als ein gesundheitsökonomisches Problem der Zukunft. Im Jahre 2000 waren weltweit bereits 171 Millionen Menschen erkrankt, für das Jahr 2025 schätzt man einen Anstieg auf weltweit 336 Millionen an Diabetes erkrankten Menschen, das heißt auf mehr als das Doppelte. Die derzeitige Prävalenz des Diabetes mellitus Typ 2 in Deutschland wird von der WHO auf 8 %, das heißt 6 Millionen Menschen geschätzt und entspricht einer Zunahme um 43% von 1988 bis 2001. 90 % aller Betroffenen leiden unter Typ 2 Diabetes mellitus.^{1,2}

Gefürchtet sind vor allem zahlreiche Folgeerkrankungen, welche das makro- und mikrovaskuläre System betreffen. Schäden am mikrovaskulären System können zur diabetischen Retinopathie und Nephropathie führen. Zerebrovaskuläre Störungen, apoplektische Insulte, die diabetesinduzierte KHK, Myokardinfarkte sowie die pAVK, die zum diabetischen Fuß mit Ulzerationen und sogar bis zu einer notwendigen Amputation fortschreiten kann, gehören zu den makrovaskulären Störungen.³

Durch die hohen Therapiekosten sowie durch Ausgaben für die Behandlung der genannten Folgeerkrankungen wird das Gesundheitssystem vermehrt belastet. Die Diabetes-Exzess-Kosten, das heißt, die Kosten, die mit der Diabetes-Erkrankung selbst in Zusammenhang stehen, beliefen sich im Jahre 2001 in Deutschland auf insgesamt 22,3 Milliarden Euro. Circa 80% der Diabetes-Exzess-Kosten entstehen durch die mit Diabetes assoziierten Folgeerkrankungen. Die mittleren jährlichen krankheitsbedingten direkten Mehrkosten eines Diabetikers im Vergleich zu einem Gesunden beliefen sich im Jahre 2001 auf 2507 Euro.⁴

Es ist daher von entscheidender Bedeutung, die Ursachen und Zusammenhänge bei der Entstehung dieser weltweit verbreiteten Volkskrankheit zurückzuverfolgen, um eine bestmögliche Prävention und Behandlung erzielen zu können. Sowohl das Diabetes Interventionsprogramm

1. Einleitung

als auch eine amerikanische und eine finnische Interventionsstudie kamen zu dem Ergebnis, dass eine Lebensstiländerung bei Personen mit eingeschränkter Glukosetoleranz in vielen Fällen das Entstehen eines Diabetes mellitus Typ 2 verzögern oder sogar verhindern kann.^{5,6,7} Jedoch müsste man bereits vor dem Stadium der eingeschränkten Glukosetoleranz (IGT) handeln, da hier in vielen Fällen bereits Gefäßveränderungen vorliegen.⁸

1.2. Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2

Die Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 beruht auf vielen sich teilweise gegenseitig beeinflussenden Faktoren (siehe Schaubild 1.1):

1.2.1. Metabolisches Syndrom

Diabetes mellitus Typ 2 ist Teil eines Symptomenkomplexes, dem sogenannten metabolischen Syndrom. Das metabolische Syndrom ist von der International Diabetes Federation (IDF) definiert als das Auftreten von einem Bauchumfang >94 cm bei Männern und >80 cm bei Frauen im Sinne einer abdominellen Adipositas in Kombination mit mindestens zwei weiteren der folgenden Symptome: Auf über 150 mg/dl erhöhte Triglyceride, unter 40 mg/dl (Männer) bzw. 50 mg/dl (Frauen) erniedrigtes HDL-Cholesterin, Bluthochdruck >130/85 mmHg und erhöhte Nüchtern-Glukosespiegel >100 mg/dl.⁹ Im Rahmen des metabolischen Syndroms sind kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität signifikant erhöht.¹⁰

1.2.2. Umwelt

Umweltfaktoren wie unausgewogene Ernährung mit wenig Ballaststoffen und viel Fett, Schwangerschaft, Medikamente (z.B. Kortikosteroide) sowie Bewegungsarmut können als wichtige Ursachen eines Diabetes mellitus Typ 2 angesehen werden. Das Risiko, an einem Diabetes zu erkranken, nimmt mit zunehmender Adipositas exponentiell zu.^{11,12} 85% der Patienten mit einem

1. Einleitung

Diabetes mellitus Typ 2 sind übergewichtig.¹³ Dennoch gibt es Menschen, die trotz eines erheblichen Übergewichtes keinen Diabetes entwickeln. Die Adipositas ist also keine einzelne Ursache für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2, sondern es bedarf noch weiterer Faktoren, wie z.B. einer Insulinresistenz.¹⁴

1.2.3. Diabetes-Gene

Von ebensolcher Bedeutung ist eine individuell unterschiedlich ausgeprägte genetische Prädisposition. 40% der Kinder mit einem an Diabetes mellitus Typ 2 erkrankten Elternteil und 70% der Kinder mit 2 erkrankten Elternteilen entwickeln selbst einen Diabetes mellitus Typ 2.¹⁵

Es wurden bereits mehrere Gene (wie z.B. PPAR γ , KCNJ11, TCF7L2) identifiziert, die eine wesentliche Rolle für die individuelle Bereitschaft einen Diabetes zu entwickeln, spielen. Jedoch handelt es sich um ein Zusammenspiel mehrerer Faktoren, weshalb sich das individuelle Erkrankungsrisiko für einen Typ 2 Diabetes noch nicht durch die Genetik vorhersagen lässt. Es wird eine Interaktion zwischen Genetik und Umweltfaktoren angenommen,^{16,17} so dass genetische Mutationen und Polymorphismen, die allein nur geringe Funktionsdefizite hervorrufen erst beim Zusammentreffen mit weiteren genetischen oder erworbenen Defekten in Erscheinung treten.

Zusammen bewirken Umweltfaktoren und Genetik eine Insulinresistenz in Leber, Muskel- und Fettgewebe sowie eine Dysfunktion der Betazellen mit verminderter Insulinsekretion und damit einhergehendem relativen Insulinmangel.

1.2.4. Insulinsynthese und -Wirkung

Insulin wird in den β -Zellen der Langerhansschen Inseln im endokrinen Teil des Pankreas gebildet. Aus dem Botenstoff mRNA wird im rauen endoplasmatischen Retikulum Präproinsulin, eine Vorstufe des Insulins synthetisiert und durch Bildung von drei Disulfidbrücken „gefaltet“. Beim

1. Einleitung

Durchtritt durch die Membran des endoplasmatischen Retikulums entsteht durch Abspaltung der Signalsequenz Proinsulin. Insulin ist ein Proteohormon, welches schließlich durch Abspaltung des C-Peptids aus Proinsulin entsteht und besteht aus einer A-Kette aus 21 Aminosäuren (AS) sowie einer B-Kette aus 30 AS, welche durch zwei Disulfidbrücken miteinander verknüpft sind.

Insulin ist ein anaboles Hormon, das zur Beschleunigung der Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettzellen führt und die Glukoseneubildung der Leber hemmt. Des Weiteren fördert Insulin die Glykogensynthese, die Lipogenese und Proteinsynthese in Leber-, Muskel- und Fettgewebe. Gleichzeitig vermindert es die Lipolyse und die damit verbundene Freisetzung freier Fettsäuren aus dem Fettgewebe und hemmt den Protein- und den Glykogenabbau. Es reguliert zudem Zellwachstum und -differenzierung durch Bindung an den Insulin-like Growth-Factor-1-Rezeptor (IGF-1-Rezeptor).¹⁸

1.2.5. Insulinresistenz

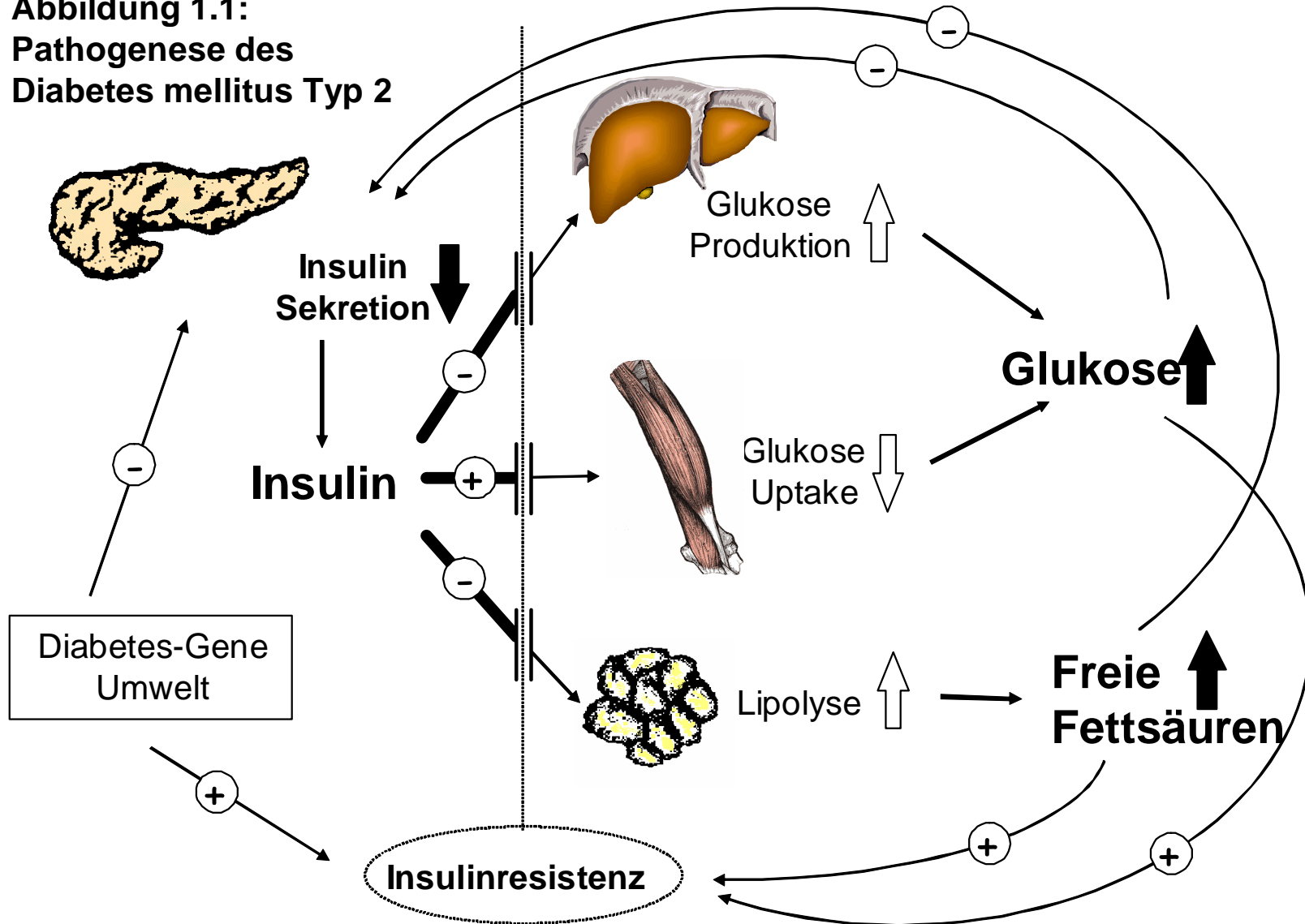
Insulinresistenz wird definiert als subnormale biologische Antwort der Zielgewebe auf eine physiologische Insulinmenge.¹⁹ Sie ist ein Risikofaktor für Diabetes mellitus Typ 2.^{20,21}

In Folge der Insulinresistenz der Leber kommt es zur unzureichenden Unterdrückung der hepatischen Glukoneogenese durch Insulin, was zu erhöhten Nüchternblutglukosespiegeln führt.²²

Die Fettverteilung spielt bei der Insulinresistenz eine Rolle: Die androide Fettverteilung (viszerales Bauchfett), die auch durch eine erhöhte Waist-to-Hip-Ratio (WHR) gekennzeichnet ist, birgt ein erheblich größeres Risiko für Insulinresistenz, als die gynoide Fettverteilung (Hüftfett).²³

Weitere Ursachen, die mit einer peripheren Insulinresistenz assoziiert werden, sind erhöhte freie Fettsäuren²⁴, erhöhte intramyozelluläre Lipidansammlungen (IMCL)²⁵ sowie Fettgewebshormone, sogenannte Adipozytokine (RBP4, Interleukin-6 (IL-6), Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Plasminogen-Aktivator-Inhibitor I (PAI-1) und vermutlich auch Resistin).²⁶

Abbildung 1.1:
Pathogenese des
Diabetes mellitus Typ 2



1. Einleitung

Durch den kompensatorisch erhöhten Insulinspiegel bei Insulinresistenz kommt es zur progredienten Rezeptorverminderung (down-regulation), was zu einer weiteren Steigerung der Insulinsekretion führt, bei der sich die β -Zellen schließlich erschöpfen.²⁷ In prospektiven Studien ist die Hyperinsulinämie prädiktiv für Diabetes mellitus Typ 2.^{28,29}

1.2.6. Normale- und gestörte Insulinsekretion

Der wichtigste physiologische Reiz für die Insulinsekretion ist eine Erhöhung der Serumglukosekonzentration.³⁰ Die anflutende Glukose wird vom insulinunabhängigen Glukosetransportprotein Glut-2 in die β -Zelle aufgenommen. Danach folgt über das Enzym Glukokinase die Glykolyse, wobei letztlich Energie in Form von ATP gewonnen wird. Die resultierende Erhöhung des zytosolischen ATP/ADP Quotient bewirkt die Schließung eines ATP-abhängigen K^+ - Kanals an der Zelloberfläche, führt damit zur Membrandepolarisation und öffnet einen Spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanal, wodurch Ca^{2+} in die Zelle einströmen kann. Dies löst die Exozytose der gespeicherten Insulin-Sekretgranula aus.³¹

Die Insulinsekretion erfolgt in zwei Phasen: Die erste Phase (first-phase-insulin response = FPIR) dauert 2-5 Minuten und schließt sich direkt an den Glukosereiz an, während die zweite Phase solange andauert, wie ein Glukosereiz vorhanden ist.³² Man spricht auch von Glukose-induzierter Insulinsekretion (GSIS). Außer Glukose stimulieren auch Aminosäuren wie Arginin³³ und freie Fettsäuren³⁴ die Insulinsekretion.

Vor der Manifestation eines Diabetes mellitus Typ 2 sind die Insulinspiegel aufgrund der bestehenden Insulinresistenz erhöht. Zuerst nimmt die pulsatile FPIR nach einem Glukosereiz ab.³⁵ Dadurch kommt es zu erhöhten postprandialen Blutglukosespiegeln, während die Nüchternblutglukosespiegel sich noch im Normbereich befinden, was auch als „impaired glucose tolerance“ (IGT) bezeichnet wird.^{36,37} Durch diesen β -Zell-Defekt kann später die Insulinresistenz nicht mehr kompensiert werden, so dass es auch zu erhöhten Nüchtern-Glukosespiegeln kommt.³⁸ Die erhöhten Glukosespiegel regen die

1. Einleitung

defekte Insulinsekretion weiter an, so dass zunächst eine nahezu normale basale Insulinsekretion erhalten bleibt. Die defekte FPIR wird auf diese Weise jedoch nicht beeinflusst.³⁹ Sie ging bei den in mehreren Studien untersuchten Populationen der Manifestation des Diabetes mellitus Typ 2 voraus.^{14,40,20,28} Schließlich erschöpft sich durch die steigende Insulinresistenz auch die basale Insulinsekretion und es kommt zur Diabetesmanifestation. Bei der Manifestation eines Diabetes mellitus Typ 2 ist die β -Zellfunktion unabhängig von der Insulinresistenz bereits um ca. 50% reduziert und nimmt im Verlauf der Erkrankung weiter ab.⁴¹

Zusammenfassend gehen einem Diabetes mellitus Typ 2 folglich zwei Hauptprädiktoren, die Insulinresistenz und eine Insulinsekretionsstörung, voraus. Es ist jedoch nach wie vor unklar, welcher der beiden Faktoren bei der Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 zuerst auftritt.⁴²

1.2.7. Steigerung der hepatischen Glukoneogenese

Da durch den relativen Insulinmangel der Glukosebedarf von Muskel- und Fettzellen nicht mehr gedeckt werden kann, produziert das Pankreas vermehrt das Hormon Glukagon, welches die Glukoneogenese der Leber stimuliert.⁴³ Durch die bei Insulinmangel einsetzende Lipolyse gelangen Körperzentral freigesetzte freie Fettsäuren über die Pfortader direkt in die Leber, wo sie ebenfalls die hepatische Glukoneogenese anregen.^{44,45}

1.2.8. Verminderte Glukoseaufnahme und -Verwertung im Muskel

Ca. 75% der Insulinabhängigen Glukoseaufnahme erfolgt im Muskel.²² Beim Typ 2 Diabetes mellitus ist der insulingesteuerte Glukosetransport in die Muskelzellen und die Glukoseverwertung durch Glukoseoxidation und Glykogensynthese vermindert.⁴⁶ Man vermutet, dass der bei Diabetes mellitus Typ 2 vorhandene relative Insulinmangel,⁴⁷ der erhöhte Spiegel freier Fettsäuren^{48,49} und die mit der Insulinresistenz assoziierten erhöhten IMCL⁵⁰ diese Störungen verursachen.

1.2.9. Erhöhter Serumglukosespiegel

Das Blutglukose-Gleichgewicht wird physiologischerweise durch die Glukoseausschüttung der Leber und den Glukoseverbrauch der Muskeln aufrechterhalten.⁵¹ Durch die verminderte Glukoseaufnahme und -verwertung des Muskels entsteht eine periphere Insulinresistenz. Zusammen mit der gesteigerten hepatischen Glukoneogenese kommt es zu einem relativen Insulinmangel, der zur Erhöhung der Blutglukose führt.

Die akute postprandiale Hyperglykämie steigert bei Nichtdiabetikern die erste Phase der Insulinsekretion. Eine chronische Hyperglykämie jedoch führt zu einem irreversiblen Schaden der Inselzellen durch oxidativen Stress und verringert die Insulinsekretion, was auch als „Glukose-Toxizität“ bezeichnet wird.⁵²

1.2.10. Lipolyse

Durch das beim Diabetes mellitus Typ 2 aufgrund des β -Zell-Versagens fehlende Insulin kommt es zur Lipolyse, wodurch aus Triacylglycerinen (TG) Glycerin und freie Fettsäuren freigesetzt werden. Fettzellen besitzen die Fähigkeit, TG intrazellulär durch Lipasen in Glycerin und freie Fettsäuren zu spalten. Die freigesetzten Fettsäuren (FS) werden durch die Thiokinase zu Acyl-CoA aktiviert. Ein Teil der FS wird nach der Aktivierung erneut mit α -Glycerophosphat zu TG verestert. Der überwiegende Anteil jedoch reagiert als aktivierte Fettsäure (Acyl-CoA) mit der Carnitin-Palmitoyltransferase (CPT-1) an der Mitochondrienmembran zu Acyl-Carnitin und kann somit diese passieren, um über die β -Oxidation abgebaut zu werden. Die β -Oxidation liefert den insulinabhängigen Geweben bei Insulinmangel große Energiemengen in Form von ATP.

Der Insulinmangel führt also zum Energiemangel in den Zielzellen. Der Körper versucht durch eine gesteigerte hepatische Glukoneogenese und Lipolyse diesen Energiemangel zu kompensieren, wodurch Blutglukose- und freie Fettsäure-Spiegel ansteigen.

1.3. Freie Fettsäuren

Freie Fettsäuren stellen mit ihrer Konzentration von 0,5 – 0,8 mmol/l (=14 – 22 mg/100 ml) die mengenmäßig geringste Lipidfraktion im Serum dar und sind mit ihrer Halbwertszeit von 12 min. sehr kurzlebig. Sie entstehen hauptsächlich bei der Lipolyse in Fettzellen und sind ein leicht oxidierbares energielieferndes Substrat. Sie stellen im Hungerzustand eine alternative Energiequelle zu Glukose dar und reservieren Glukose für die Gewebe, die darauf angewiesen sind, wie z.B. das Gehirn. Dadurch werden auch Proteinreserven zurückgehalten, die andernfalls durch Glukoneogenese verbraucht werden würden. Freie Fettsäuren stammen hauptsächlich aus dem Abbau von TG, welche den Hauptenergiespeicher im Fettgewebe darstellen.

Ein Teil des Fettgewebes wird ständig auf- oder abgebaut, so dass intermediär freie Fettsäuren entstehen. Der Spiegel freier FS hängt im Wesentlichen von Lipolyse, Lipogenese und Reveresterung ab (s.o.), die durch Nahrungsaufnahme, Hormone und Stoffumsatz beeinflusst werden. Im Blut können FS an Albumin gebunden transportiert werden, was ihre Löslichkeit im wässrigen Milieu verbessert.⁵³

1.3.1. Rolle der Freien FS bei der Entstehung des Diabetes mellitus

In Studien bestand mehrfach ein Zusammenhang zwischen erhöhten freien Fettsäuren und der Entwicklung eines NIDDM.^{54,55} Für die pathogenetische Rolle der freien Fettsäuren bei der Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2 gibt es verschiedene Ansätze (siehe Schaubild 1.2).

1.3.1.1. Freie Fettsäuren und Insulinresistenz

Gemeinsames Auftreten von erhöhten freien Fettsäuren und erhöhten Triglyceridspiegeln sowie Insulin führen zu einer exzessiven Ablagerung von TG in verschiedenen Geweben, auch im Muskel (IMCL), woraus eine periphere

1. Einleitung

Insulinresistenz durch Störung von Glukoseoxidation und -transport hervorgeht.^{56,57}

Bei Insulinresistenz helfen freie Fettsäuren durch Steigerung der Glukose-induzierten Insulinsekretion (GSIS) eine benötigte Hyperinsulinämie aufrechtzuerhalten, wodurch eine Lipolyse verhindert wird. Da Fettzellen bei der Entstehung eines Typ 2 Diabetes resistent gegenüber dem antilipolytischen Effekt des Insulins werden, kommt es dennoch zu Lipolyse und einem Anstieg der freien Plasma-Fettsäuren.⁵⁸

1.3.1.2. Freie Fettsäuren und Insulinsekretion

Im Nüchternzustand unterhalten freie Fettsäuren ca. 30% der basalen Insulinsekretion.⁵⁹ Sie vermindern dadurch eine Lipolyse durch Insulinmangel, so dass keine Ketoazidose auftritt. In Studien an Ratten und an Menschen zeigte sich, dass freie Fettsäuren im Nüchternzustand die GSIS steigern und hierfür dringend nötig sind. Wurde bei nüchternen Probanden die Lipolyse durch Nikotinsäure gehemmt, sanken die Spiegel der freien Fettsäuren und es kam zu erniedrigten basalen Glukose- und Insulinspiegeln und zu einer deutlich abgeschwächten GSIS.^{60, 61}

Nach Nahrungsaufnahme sind freie Fettsäuren im Gegensatz zum Nüchternstatus nicht unbedingt für eine adäquate Insulinsekretion nötig.⁵⁷

Je nach Dauer der Exposition gegenüber erhöhten freien Fettsäuren steigern kurzfristig (<6h) erhöhte freie Fettsäuren die Glukose-induzierte „first-phase“ Insulinsekretion (FPIR) während längerfristig (>24h) erhöhte freie Fettsäuren beim Gesunden die basale Insulinsekretion erhöhen und andererseits die GSIS vermindern.^{62,63} Jedoch zeigte sich nicht in allen Studien nach 24-48h Exposition gegenüber freien Fettsäuren eine Senkung der GSIS.³⁴ Wodurch kurzfristig erhöhte freie Fettsäuren die „first-phase“ GSIS steigern, ist letztlich noch nicht geklärt.^{64,65} Möglicherweise aktivieren freie Fettsäuren die Proteinkinase C (PKC) durch eine Ca^{2+} -Mobilisierung aus den Zellorganellen ins Zytosol, wie es bei Ratten angenommen wird.⁶⁶ Die insulinfreisetzende

1. Einleitung

Potenz stieg bei Ratten mit Kettenlänge und Sättigungsgrad der freien Fettsäuren.⁶⁷

Bei erblich mit Typ 2 Diabetes mellitus vorbelasteten Personen oder bereits eingetretener IGT gibt es Hinweise darauf, dass chronisch erhöhte freie Fettsäuren die GSIS beeinträchtigen, was man auch als „Lipotoxizität“ bezeichnet.^{68,69,70,71} Jedoch beeinträchtigen freie Fettsäuren nur die GSIS während die Sekretion durch andere Stimuli unbeeinträchtigt blieb.⁷² Wurden die freien Fettsäuren bei Probanden mit positiver Familienanamnese für Typ 2 Diabetes mellitus gesenkt, verbesserte sich ihre FPIR.⁷³

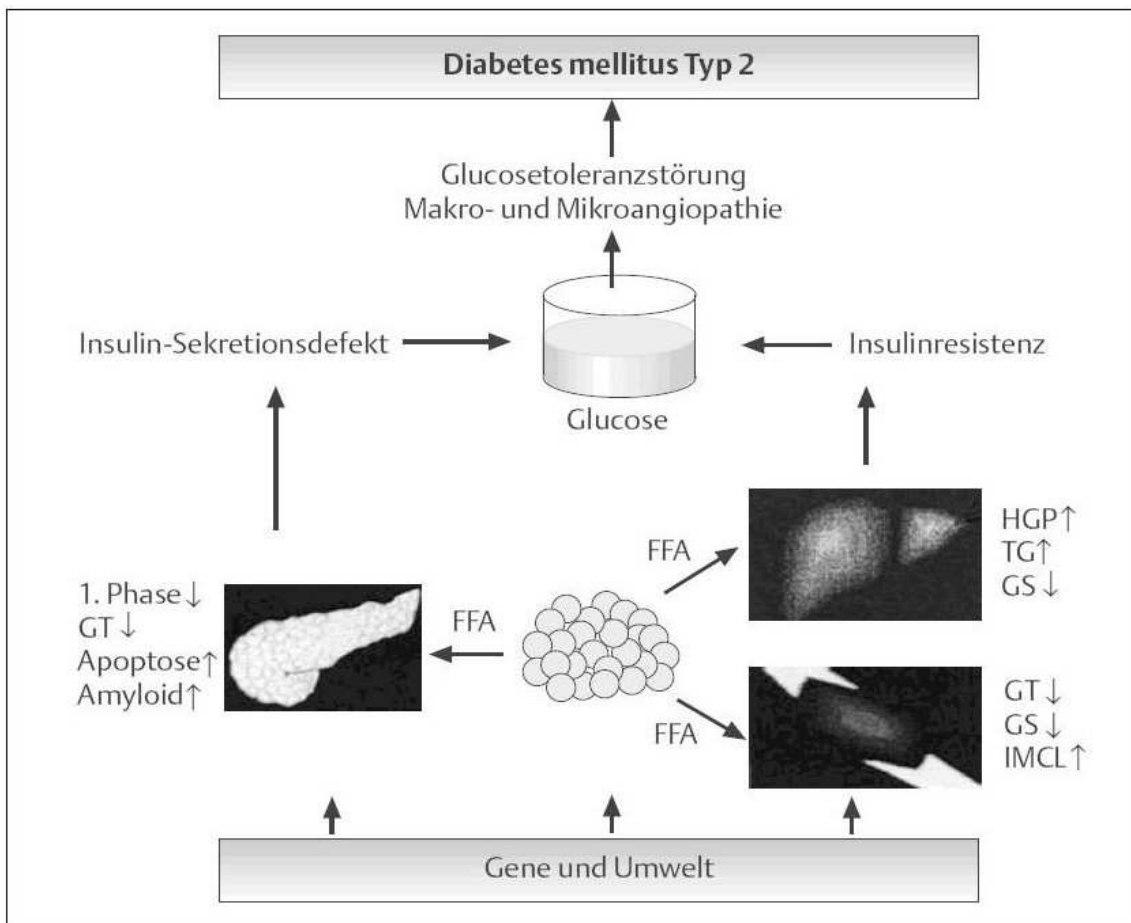


Abbildung 1.2: Pathomechanismus der freien Fettsäuren bei Diabetes mellitus Typ 2

(Quelle: Diabetologie in Klinik und Praxis, Mehnert, Standl, Usadel, Häring, S. 71, 5. Auflage, 2003, Georg Thieme Verlag Stuttgart New York)

FFA = freie Fettsäuren, **1. Phase** = erste Phase der Insulinsekretion, **GT**= Glukosetransport, **HGP**= hepatische Glukoseproduktion, **TG**= Triglyceride, **GS**= Glykogen-synthese, **IMCL**= intramyozelluläres Lipid

1. Einleitung

1.3.1.3. Mögliche Mechanismen der Lipotoxizität

Es gibt verschiedene Ansätze, die den pathophysiologischen Einfluss freier Fettsäuren auf die Inselzellen zu erklären versuchen:

a) Randle-Zyklus

Der von Sir Philipp Randle 1963 am Herzmuskel beschriebene Zyklus besagt, dass bei hohem Glukoseangebot die β -Oxidation der freien Fettsäuren durch erhöhte Glukoseoxidation gedrosselt wird. Andererseits hemmen erhöhte Spiegel freier Fettsäuren die Glukoseoxidation der Zellen.⁷⁴ Dies könnte auf die pankreatischen β -Zellen übertragen werden: Im Tierversuch und bei Experimenten mit humanen Inselzellen führte die langfristige Exposition von β -Zellen gegenüber erhöhten FS-Spiegeln in vitro zur Inaktivierung Pyruvatdehydrogenase (PDH) durch Phosphorylierung, welche Pyruvat aus der Glykolyse dem Citratzyklus zur Energiegewinnung durch Glukoseoxidation zuführt.^{75,76,77} Man nimmt daher an, dass eine langfristige Exposition gegenüber erhöhten freien Fettsäuren durch verminderte Glukoseoxidation der β -Zelle zur Reduktion der GSIS führt.^{78,79,57}

b) Lipidsignale: Malonyl-CoA und langkettiges Acyl-CoA

Nach der Hypothese von Prentki und Corkey führen erhöhte Spiegel freier Fettsäuren nur bei ebenfalls erhöhten Glukosespiegeln zu einer Störung der GSIS. Zu dieser Hypothese wurden tierexperimentelle Untersuchungen und Untersuchungen mit geklonten β -Zellen in vitro durchgeführt:

Bei ausreichendem Angebot von Glukose und freien Fettsäuren kommt es zu einer Anhäufung von Citrat aus der Glykolyse, aus welchem mit Hilfe des Enzyms Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) im Rahmen der Lipogenese Malonyl-CoA synthetisiert wird. Malonyl CoA hemmt die Carnitin-Palmitoyltransferase (CPT1), welche den Transport der LC-CoA, der aktivierten intrazellulären Form der freien Fettsäuren, ins Mitochondrium ermöglicht. Daher blockiert Malonyl-

1. Einleitung

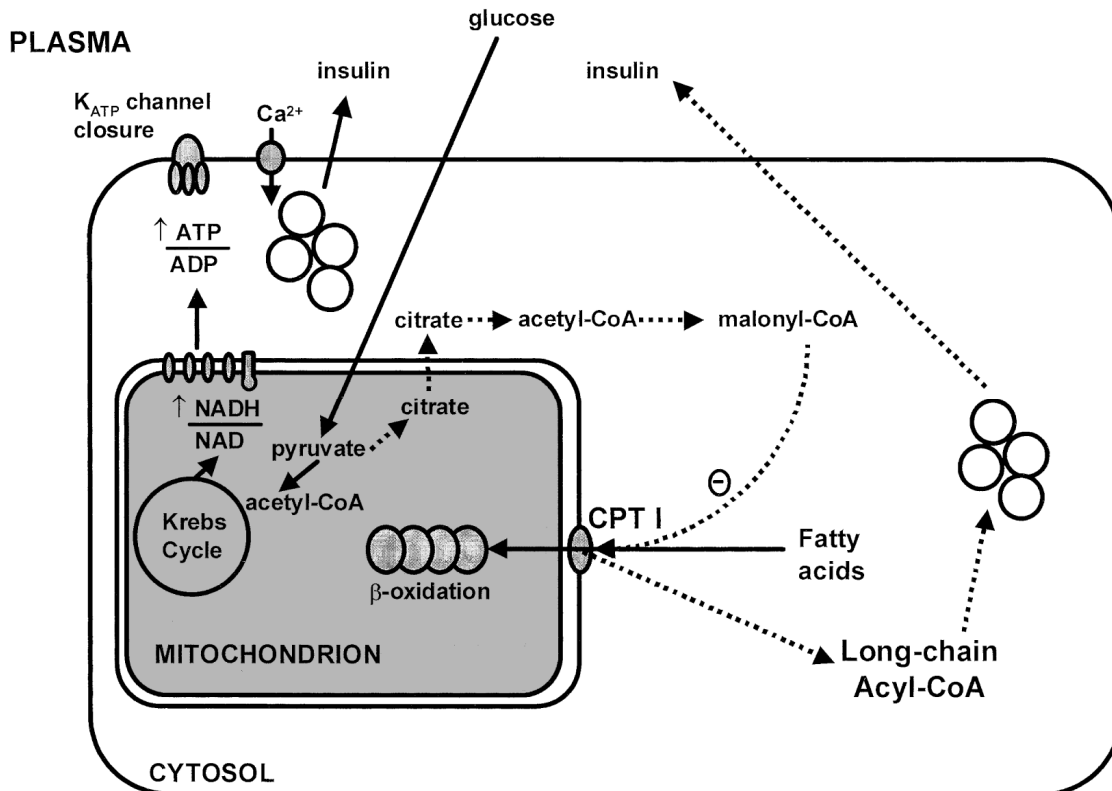


Abbildung 1.3: Pancreatic β -cell insulin secretion indicating K-ATP-channel-dependent insulin secretion (solid arrows) and augmentation/anaplerosis pathway (dashed arrows); Quelle: Biochem. Soc. Trans; 31:1137-1139; 2003

CoA bei Anwesenheit von erhöhten Glukosespiegeln die β -Oxidation der freien Fettsäuren zugunsten der Glukoseoxidation, wodurch intrazellulär LC-CoA angehäuft wird. ACC und CPT-1 fungieren hierbei als Brennstoffensoren, während Malonyl-CoA als Kippschalter agiert, welcher über das Schicksal der intrazellulären Lc-CoA (β -Oxidation oder Signaltransduktion) entscheidet (siehe Schaubild 1.6).^{80,65,81}

Man vermutet, dass die erhöhten LC-CoA-Spiegel eine Öffnung des ATP-abhängigen K⁺-Kanals auslösen, was Störungen bei der GSIS hervorrufen würde.⁸² Außerdem wäre denkbar, dass LC-CoA die Aktivierung verschiedener Isoformen der PKC, die G-Protein Acylierung, die Genexpression z.B. von peroxisome proliferator-activated Rezeptoren (PPAR's) und direkt die Insulinexozytose, welche alle Funktionen bei der GSIS besitzen, beeinträchtigen.⁸³

c) Apoptose

Bei Autopsien von an Typ 2 Diabetes mellitus erkrankten Menschen sowie bei Zucker-Diabetes-Fett (ZDF)-Ratten wurde trotz normaler bis erhöhter Zellproliferationsrate eine um 40-60% verminderte β -Zellmasse und verminderte β -Zellfunktion nachgewiesen, weshalb man annimmt, dass deren Apoptoserate erhöht ist.^{84,85}

Eine chronische Exposition der β -Zellen von Menschen und ZDF-Ratten gegenüber erhöhten freien Fettsäuren in vitro führt zu einem erhöhten intrazellulären LC-CoA Gehalt, was mit einem vermehrten programmierten Zelltod einhergeht.^{86,87} Überschüssig eingelagerte FS können schädliche Reaktionen, z.B. eine erhöhte Ceramidproduktion, auslösen. Ceramid verstärkt die NO-Bildung, was einen Untergang der Zellen durch Apoptose zur Folge haben kann.⁸⁸ Chronisch erhöhte freie Fettsäure-Spiegel könnten so zum β -Zelluntergang und zur verminderten Insulinsekretion führen.

d) Peroxisom Proliferator-aktivierte Rezeptoren (PPAR)

Peroxisome proliferator-activated Rezeptoren (PPAR's) können durch FS stimuliert werden. Sie regulieren die Genexpression für β -Oxidation der FS und Lipogenese. Von ihnen sind drei Unterformen: α , β und γ bekannt.

Bei chronischer Exposition der Inselzellen gegenüber freien Fettsäuren nimmt die Expression von PPAR α -Rezeptoren und Pyruvatcarboxylase ab, wodurch wiederum die Expression von Präproinsulin-mRNA und dadurch die GSIS sinkt.⁸⁹ Die Abnahme der Insulinsekretion bei chronischer freier Fettsäure-Exposition könnte also auch auf einer verminderten Genexpression beruhen.

e) Uncoupling Protein 2 (UCP2)

In β -Zellen kommt es bei erhöhtem Glukoseangebot durch Glykolyse zur ATP-Produktion, wodurch ATP-sensitive Kaliumkanäle geschlossen und die Insulinsekretion angeregt werden. UCP2 ist ein Membranprotein der

1. Einleitung

Mitochondrien, welches in der Lage ist, die Oxidative Phosphorylierung der Glykolyse zu entkoppeln, so dass die ATP-Produktion und folglich auch die Insulinsekretion der Zelle sinkt. Erhöhte freie Fettsäuren führen zu einer vermehrten Expression des UCP2 Gens, so dass es zur verminderten Insulinsekretion kommt.⁹⁰

f) Oxidativer Stress

Eine langfristige Exposition von Inselzellen aus Ratten gegenüber freien Fettsäuren führt durch die Entstehung von „reactive oxygen species“ (ROS) zur Entkopplung der Zellatmung. Die Zellen enthalten durch die fehlende oxidative Phosphorylierung weniger Energie in Form von ATP, wodurch die GSIS vermindert wird.⁹¹ ROS reduzieren außerdem die „pancreas duodenum homebox-1“ (PDX-1-) mRNA einen Transkriptionsfaktor, der für Insulingenexpression und Insulinbiosynthese nötig ist.⁵²

g) Chemische Eigenschaften der Fettsäuren

Bei Untersuchungen in vitro ergab sich, dass gesättigte, langkettige freie Fettsäuren die Apoptoserate von humanen β -Zellen durch Ceramidproduktion erhöhen, während einfach ungesättigte und kürzere FS die β -Zellen vor diesen Auswirkungen schützen.^{92,93} Eine Erklärung für den Effekt gesättigter FS könnte ihr hoher Schmelzpunkt sein. Sie sind bei 37°C Körpertemperatur unlöslich und werden vermutlich in verschiedenen Zellen abgelagert, wo sie zu Schäden führen können.

1.4. Fragestellung und Zielsetzung

Es gibt Evidenz dafür, dass ein erhöhter Plasmaspiegel der freien Fettsäuren eine wichtige Rolle bei der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 spielt. Ein Mechanismus für die Entstehung eines Diabetes mellitus ist hierbei die Verschlechterung der Insulinwirkung bei erhöhten Fettsäurespiegeln. Ob erhöhte freie Fettsäuren auch zusätzlich zu einer Verschlechterung der Insulinsekretion und damit zu einer weiteren Erhöhung des Blutglukosespiegels führen, ist unklar.

In der folgenden Arbeit soll untersucht werden, ob die Nüchtern-Plasmaspiegel der freien Fettsäuren in einer großen Population von Risikopersonen für Typ 2 Diabetes mellitus im Querschnitt einen Zusammenhang mit der Insulinsekretion zeigen. Ferner soll bei einer Population von Risikopersonen für Typ 2 Diabetes mellitus mit normaler Glukosetoleranz (NGT) und eingeschränkter Glukosetoleranz (IGT) longitudinal untersucht werden, ob die Plasmaspiegel der Freien Fettsäuren ein Prädiktionsfaktor für die Änderung der Insulinsekretion während einer Lebensstilintervention sind.

2. Probanden, Material und Methoden

2.1. Probanden

Für die Durchführung der Arbeit wurden die Daten von 1055 Probanden aus Tübingen und Umgebung, die im Rahmen der TÜF - Studie (Tübinger Familien Studie) an einem Oralen Glukose-Toleranz-Test (OGTT) teilnahmen, verwendet. Darunter befanden sich 691 weibliche und 364 männliche Personen. Das mittlere Alter betrug 37 Jahre bei einer Spannbreite von 18 bis 73 Jahren. 898 Probanden wiesen entsprechend den Kriterien der WHO (siehe Tabelle 2.1) eine normale Glukosetoleranz (NGT) auf (2-h- Plasmaglukose <140 mg/dl), während bei 157 Probanden eine gestörte Glukosetoleranz (IGT =impaired glucose tolerance) mit einem 2-h-Wert zwischen 140 mg/dl und 199 mg/dl festgestellt wurde.

Weiterhin wurden 105 Probanden untersucht, die an der TULIP – Studie teilnahmen. (Tübinger Lebensstil Interventions-Programm). Bei der TULIP-Studie handelt es sich um eine longitudinale Lebensstil-Interventionsstudie. Die Probanden erhalten über 2 Jahre in 16 Visiten eine Ernährungsberatung (Ziel ist eine Gewichtsreduktion um 5%, eine Reduzierung der Kalorienaufnahme sowie 3 Stunden körperliche Bewegung in der Woche). Die Teilnehmer unterzogen zu Beginn der Studie sowie nach 9 und 24 Monaten einem OGTT. Die teilnehmenden Probanden wurden vorab sowohl mündlich als auch schriftlich über den genauen Untersuchungs- und Studienablauf, sowie die Freiwilligkeit ihrer Teilnahme und ihre jederzeit widerrufbare Zustimmung zu den Untersuchungen, informiert. Alle Befragten erteilten ihr Einverständnis zu den vorgesehenen Untersuchungen.

2. Probanden, Material und Methoden

2.1.1. Einschlusskriterien

In die Studie eingeschlossen wurden Probanden, die 18 - 70 Jahre alt waren und entweder erstgradige Verwandte mit Typ 2 Diabetes hatten, oder zuvor bereits unter Gestationsdiabetes erkrankt waren, oder die einen Body-Mass-Index von über 27 kg/m² aufwiesen und zu diesem Zeitpunkt noch eine normale Glukosetoleranz (NGT) oder eingeschränkte Glukosetoleranz (IGT) zeigten.

2.1.2. Ausschlusskriterien

Nicht eingeschlossen wurden Personen, die an schweren psychiatrischen Erkrankungen erkrankt waren, oder bereits einen manifesten Diabetes mellitus entwickelt hatten. Ebenfalls ausgeschlossen wurden schwangere und stillende Frauen sowie Personen, die akut erkrankt waren oder, die Medikamente einnahmen, bei denen eine Beeinflussung der Glukosetoleranz, der Insulinsekretion und Insulinresistenz bekannt ist.

2.2. Material

2.2.1. Blutentnahmen und OGTT

Vasofix [®] Braunüle 1,1 mm (18 G) 1 ¼ Luer Lock	Fa. B. Braun Melsungen AG
Multi-Adapter [®] Dreiwegehahn	Fa. Sarstedt, Nürnbergrecht Fa. Sarstedt, Nürnbergrecht
5 bzw. 20 ml Injekt Spritzen	Fa. B. Braun Melsungen AG
Dextro O.G.T.-Saft 300 ml	Fa. Hoffmann La-Roche, Mannheim
Luer Lock Verschlussstopfen	Fa. B. Braun Melsungen AG
Blutentnahmeröhrchen: S-Monovette [®]	Fa. Sarstedt, Nürnbergrecht
Isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9%	Fresenius Kabi Deutschland GmbH

2.3. Methoden

2.3.1. Versuchsvorbereitung und Testbedingungen

An den Untersuchungstagen wurden gegen 8.00 Uhr bis zu drei Probanden im Untersuchungslabor der Medizinischen Klinik aufgenommen. Sie sollten am Tag vor der Untersuchung ihre letzte Mahlzeit bis spätestens 20.00 Uhr zu sich nehmen und daraufhin nur noch Wasser trinken und nüchtern bleiben. Am Untersuchungsmorgen durften die Probanden weder rauchen noch Kaugummi kauen und auch kein Wasser mehr trinken. Sie sollten sich während des OGTT möglichst wenig bewegen. Vor Beginn des Tests wurden die Probanden ausführlich über den Ablauf und Ziele der Untersuchungen informiert und ihr Einverständnis eingeholt, das sie jederzeit widerrufen konnten. Vor der Untersuchung wurde für die Blutentnahmen eine periphere venöse Verweilkanüle in die Ellenbeuge oder den Unterarm gelegt.

2.3.2. Versuchsablauf

2.3.2.1. OGTT

Zunächst wurde eine basale Blutabnahme aus der venösen Verweilkanüle durchgeführt. Hieraus wurden die Nüchternwerte für ein kleines Blutbild, ein großes Labor^A, Blutglukose, HbA_{1c}, Proinsulin, Plasmainsulin, C-Peptid, Blutfettwerte^B, Cytokine^C, Leptin, Apolipoproteine, Adiponektin, Hormone^D, Vitamin D und GAD-Antikörper bestimmt. Daraufhin erhielten die Probanden innerhalb von maximal 5 min. oral 300ml Glukoselösung, in der 75g Glukose enthalten waren. Es folgten weitere venöse Blutentnahmen zu den Zeitpunkten „30, 60, 90 und 120 min.“, aus denen jeweils die Parameter Blutglukose, Proinsulin, Plasmainsulin, C-Peptid und Blutfettwerte bestimmt wurden.

^A Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Natrium, Calcium, anorganisches Phosphat, Magnesium, GOT, GPT, γ -GT, Chlorid, Gesamteiweiß, Albumin, CRP, LDL, HDL, Eisen, Ferritin, Transferrin, Lipoprotein (a)

^B freie Fettsäuren, Cholesterin, Triglyceride

^C IL-6, TNF- α , MCP-1, VCAM-1, ICAM-2, E-Selectin, Big Endothelin-1

^D TSH, Cortisol, Prolaktin, Homocystein

2. Probanden, Material und Methoden

nüchtern	Plasmaglukose, mg/dl [mmol/l]	
	venös	kapillär
„Diabetes“ ^(*)	≥126 [≥7,0]	≥126 [≥7,0]
„IFG“	≥110 [≥6,1] und <126 [<7,0]	≥110 [≥6,1] und <126 [<7,0]
„IGT“	<126 [<7,0]	<126 [<7,0]
Normaler Nüchternwert	<110 [<6,1]	<110 [<6,1]
OGTT 2-h		
„Diabetes“ ^(*)	≥200 [≥11,1]	≥220 [≥12,2]
„IFG“	<140 [<7,8]	<160 [<8,9]
„IGT“	≥140 [≥7,8] und <200 [<11,1]	≥160 [≥8,9] und <220 [<12,2]
„NGT“	<140	<160

Tabelle 2.1: Labordiagnostische Äquivalente für Plasmaglukose

[Quelle: World Health Organization: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: Report of a WHO Consultation. (1999)]

IGT= Gestörte Glukosetoleranz, „Impaired Glucose Tolerance“

NGT= Normale Glukosetoleranz

IFG= Gestörte Nüchternglukose, „Impaired Fasting Glucose“

*) Die Diagnose Diabetes wird gestellt, wenn einer der beiden Werte bzw. beide Werte erhöht sind.

Die insgesamt an einem Untersuchungsmorgen abgenommene Blutmenge entsprach ca. 160ml. Alle Probanden wurden angehalten, während der Untersuchung mit leicht erhöhtem Oberkörper in ihren Betten zu ruhen und keine weiteren anstrengenden Tätigkeiten zu verüben. Sie erhielten während der Durchführung des OGTT mehrere Fragebögen zu Familienstand, beruflichem Werdegang, Ernährungs- und Freizeitgewohnheiten, Sport, Vorerkrankungen beim Probanden selbst sowie in der Familie, psychologischen Auffälligkeiten, Medikamenteneinnahme und bei Frauen zusätzlich über Schwangerschaften und Menstruationszyklus sowie einen schriftlichen Aufklärungsbogen über die Studie.

Aus den beim OGTT gewonnenen Daten konnte man die Insulinsensitivität ISI_{est} nach Matsuda abschätzen (siehe Abschnitt 2.3.4). Die Einteilung der Untersuchungsergebnisse des OGTT in NGT und IGT erfolgte nach den Kriterien der WHO⁹⁴. Hierbei ist zu beachten, dass der Blutzucker im venösen Vollblut etwa 5-10 % niedriger ist als im kapillären Vollblut.⁹⁵

2.3.2.2. Bestimmung des BMI

Die Berechnung des BMI setzt das Körpergewicht in Relation zur Körperlänge. Vor oder zu Beginn des OGTT wurden Körpergewicht [kg] und Körpergröße [m] der Probanden bestimmt und mit der Formel des Body-Mass-Index:

$$\text{BMI} = \frac{[\text{kg}]}{[\text{m}^2]} \text{ berechnet.}$$

Normwerte des BMI für Frauen liegen bei 19-24 kg/m²; Normwerte des BMI für Männer (beides modifiziert nach WHO 2000) liegen bei 20-25 kg/m².

Klassifikation	m	w
Untergewicht	<20	<19
Normalgewicht	20-24,99	19-23,99
Übergewicht/ Präadipositas	25-29,99	24-29,99
Adipositas Grad I (mäßige)	30-34,99	30-34,99
Adipositas Grad II (deutlich)	35-39,99	35-39,99
Adipositas Grad III (extrem)	>40	>40

Tabelle 2.2: Klassifikation von Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen (nach WHO 2000)

2.3.2.3. Bestimmung der WHR

Durch Messung des maximalen Hüftumfanges, der ungefähr in Höhe des Trochanter majores liegt und des minimalen Taillenumfanges ungefähr in Höhe des Bauchnabels, konnte die Waist-to-Hip-Ratio (WHR) bestimmt werden. Durch die Berechnung der WHR konnte man die Probanden dem sogenannten gynoiden (hüftbetonten) oder androiden (bauchbetonten) Fettverteilungstyp zuordnen. Je größer der Quotient, desto stammbetonter ist die Fettverteilung. Bei Männern liegt ab einer WHR von über 1 und bei Frauen ab über 0,85 eine Adipositas vor.⁹⁶

2.3.2.4. Bestimmung des Körperfettgehaltes

Die bioelektrische Impedanzmessung mittels 2 Elektroden jeweils an Arm und Bein erlaubt eine Aussage über den Körperfettgehalt. Mit Hilfe des Gerätes BIA-101, RJL Systems, Detroit, USA, wurde der Resistance- und Reactancewert für einen durch den Körper geleiteten minimalen Strom gemessen, aus welchen mit dem Softwareprogramm Body Composition Weight Management Program (Body Composition through Impedance Technology, Beta Test Version 0,9, Copyright RJL Systems 1989, RJL Systems 9930 Whitier, Detroit MI/48224, USA) unter Berücksichtigung von Körpergewicht, Körpergröße, Alter und Geschlecht des jeweiligen Probanden der prozentuale Körperfettgehalt, der Körperwassergehalt sowie die fettfreie Körpermasse (=Lean-Body-Mass) bestimmt wurde. Ein niedriger Impedanzwert korreliert mit einem niedrigen Körperfettanteil und einem höheren Wassergehalt, da der Fettanteil schlecht leitfähig ist und daher als Widerstand fungiert. Wasserhaltige Gewebe dagegen sind gut leitfähig und äußern sich in einer niedrigen Impedanz. Da bei unterschiedlichen Frequenzen der Strom bevorzugt durch eines der drei Kompartimente Wasser, Fett und fettfreie Körpermasse fließt, kann man durch Impedanzmessung und Messung der Phasenverschiebung bei verschiedenen Frequenzen Rückschlüsse auf den Prozentsatz dieser drei Anteile ziehen.

Alter	Frauen	Männer
bis 30 Jahre	11-21%	8-15%
30-50 Jahre	19-21%	13-15%
>50 Jahre	21-25%	15-18%

Tabelle 2.3: Normwerte Körperfettgehalt in Abhängigkeit vom Alter & Geschlecht

2.3.3. Probenverarbeitung

Die Blutglukose wurde sofort nach der Blutabnahme bestimmt. Proben für die Bestimmung der Cytokine, Leptin, Homocystein, Insulin, Proinsulin, C-Peptid und alle zu bestimmenden Blutfettwerte wurden nach der Gewinnung entweder sofort auf Eis zur Untersuchung ins Labor gebracht oder bis zur Analyse auf Eis gelagert. Die Leptin- und Cytokinproben wurden bei +4°C und 3500 U/min. für 10 min. zentrifugiert, dann abpipetiert und bei –80°C bis zur Analyse eingefroren. Proben zu späteren Abnahmezeitpunkten für die Bestimmung der freien Fettsäuren, Insulin, Proinsulin und C-Peptid im Serum wurden bis zur Untersuchung auf Eis gelagert. Serumadiponektinproben wurden bei +4°C und 3500 U/min. für 10 min. zentrifugiert, anschließend abpipetiert und bei –20 °C eingefroren, da sie so über längere Zeit stabil bleiben und man bei den Messungen noch Jahre später unveränderte Ergebnisse erhält.⁹⁷

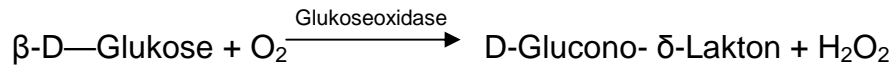
2.3.3.1. Blutglukose

Für die Bestimmung der Blutglukose wurde das Gerät YSI 2300 STAT plus (Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, Co, USA) verwendet, welches den Blutzucker aus einer 25µl Probe nach der Glukose-Oxidase Methode bestimmt: Die messende Platinelektrode des YSI 2300 STAT plus ist von einer Dreischichtmembran bedeckt. Zuerst passiert die B-D-Glukose eine Polycarbonatmembran, die verhindert, dass die Reaktion enzymabhängig verläuft. Anschließend gelangt sie zu einer immobilen Enzymschicht, auf der sich das Enzym Glukoseoxidase befindet, welches die Glukose oxidiert. Dabei entsteht D-Glukono-δ-Lakton und Wasserstoffperoxid (H₂O₂). H₂O₂ wird an der sich dahinter befindenden Platinelektrode oxidiert wobei Elektronen freigesetzt werden, welche einen Strom zur Anode bilden und an der Elektrode gemessen werden können. Es entsteht ein dynamisches Gleichgewicht wenn H₂O₂ ebenso schnell entsteht wie es oxidiert wird und mit den Elektronen die immobile Enzymschicht verlässt. Im Gleichgewichtszustand ist die Glukosekonzentration

2. Probanden, Material und Methoden

der Probe proportional zum Elektrodenstrom, aus welchem man dann die Glukosekonzentration bestimmt.

Reaktion 1:



Reaktion 2:

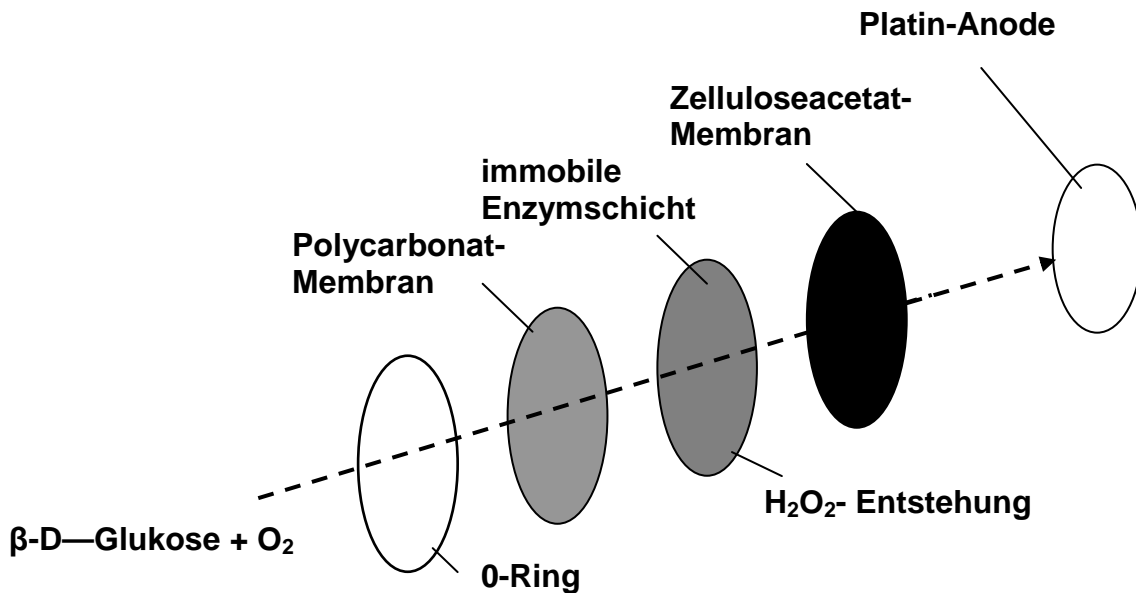
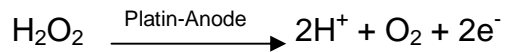


Abbildung 2.1: Bestimmung der Blutglukose nach der Glukose-Oxidase Methode

2.3.3.2. Insulin

Die Insulinbestimmung erfolgte mit dem Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) Verfahren von Abbott Laboratories, Tokio, Japan.

Dieses Prinzip beruht auf der Bindung der Insulinantigene an Insulinantikörper. Die dadurch entstandenen Immunkomplexe binden anschließend auf einem Trägermaterial aus Glasfaser. Nicht an das Trägermaterial gebundene Substanzen werden ausgewaschen. An die bei der Inkubation entstandenen Immunkomplexe lagern sich die zugegebenen, mit alkalischer Phosphatase markierten Anti-Antikörper an die freien Bindungsstellen der Antikörper im Immunkomplex. Die anschließende Zugabe des Substrates 4-Methylbelliferyl Phosphat, welches an das Enzym bindet, wird zu 4-Methylbelliferyl hydrolysiert und bewirkt eine fluoreszierende Farbreaktion. Die Menge des erzeugten 4-Methylbelliferyl, die in ihrer Intensität der Insulinmenge entspricht, kann mit einer MEIA-Optik gemessen werden.

2.3.3.3. C-Peptid

Die Bestimmung des C-Peptids erlaubt eine Aussage über die Sekretionsleistung der Langerhansschen β -Zellen des Pankreas, da das C-Peptid als ein Teil des Proinsulinmoleküls bei der Entstehung eines Insulinmoleküls abgespalten wird. Normwerte liegen im Bereich von 0,43 - 2,5 ng/ml.^E

Hier erfolgte die Bestimmung des C-Peptids mit Hilfe einer ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay), einem zweiseitigen Immunoassay mit einer Festphase. Das Verfahren beruht auf einer Sandwich-Technik, bei der zunächst gegen das Antigen (hier C-Peptidmolekül) gerichtete Fänger-Antikörper auf einer Mikrotiterplatte in der Inkubationsphase die C-Peptidmoleküle der Probe binden. Nach Auswaschen der ungebundenen C-Peptidmoleküle aus der Probe werden Peroxidase-markierte Detektions-Antikörper, die ebenfalls gegen die C-Peptidmoleküle gerichtet sind, zugegeben und ebenfalls mit der Platte inkubiert.

^E Siehe Normwertetabelle in Abschnitt 6.5. im Anhang

2. Probanden, Material und Methoden

Ungebundene Antikörper werden erneut ausgewaschen. Die gebundenen Peroxidase-markierten Antikörper werden durch Zugabe des Substrats 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) sichtbar gemacht. Eine anschließende Säurezugabe stoppt die Farbreaktion. Der dadurch erhaltene colorimetrische Endpunkt wird spektrophotometrisch abgelesen.

2.3.3.4. Im Zentrallabor der Uni Tübingen durchgeführte Bestimmungen

zum Fettstoffwechsel

a) Triglyceride

Zur Triglyceridbestimmung wurde der Enzym-Test von Sigma Diagnostics[®] USA verwendet. Triglyceride bestehen aus Fettsäuren und jeweils einem Glycerinmolekül. Dieses Glycerinmolekül reagiert mit dem hier zugegebenen ATP und dem Enzym Glycerokinase zu Glycerin-1-Phosphat und ADP. Das entstandene ADP wird mit Phosphoenolpyruvat und dem Enzym Pyruvatkinase zu ATP phosphoryliert wobei außerdem Pyruvat entsteht. Pyruvat reagiert mit NADH und dem Enzym Laktatdehydrogenase zu Laktat und NAD⁺. So entsteht für jedes Triglycerid ein Glycerinmolekül und ein NADH, welches zu NAD⁺ umgewandelt wird. Die dadurch entstehende Extinktionsabnahme für NADH ist photometrisch messbar und somit kann die Triglyceridmenge bestimmt werden.

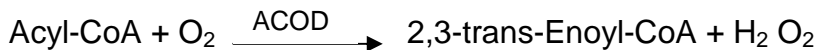
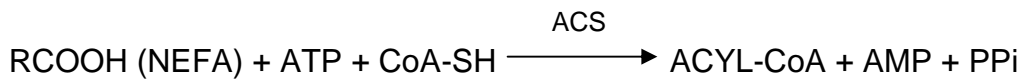
b) Cholesterin

Das Serumcholesterin wurde ebenfalls mit einer enzymatischen Methode bestimmt. Das Enzym Cholinesterase spaltet zunächst im Serum vorkommenden Cholesterinester in freies Cholesterin. Mit dem Enzym Cholesterinoxidase wurde anschließend das Cholesterin zu Cholesten-3-on und Wasserstoffperoxid (H₂O₂) oxidiert. Das entstandene Wasserstoffperoxid reagiert mit 4-Aminoantipyrin und Phenol bei Zugabe des Enzyms Peroxidase zu Chinonimin und Wasser. Die Extinktion des gewonnenen Farbstoffs kann man photometrisch messen und somit über den Extinktionswert die Cholesterinkonzentration bestimmen.

c) Freie Fettsäuren

Die gesamten freien Fettsäuren im Serum wurden mit dem enzymatischen Farbttest von WAKO chemicals, Neuss, Germany, bestimmt.

Das Testprinzip:



Die Intensität des entstehenden roten Farbstoffes ist der Konzentration unveresterter Fettsäuren in der Probe proportional. Das Extinktionsmaximum des Farbstoffes liegt bei 550 nm. Die Ascorbinsäure wird durch Ascorbat-Oxidase aus der Probe entfernt. Eine Heparinbehandlung des Patienten oder eine vorausgegangene Mahlzeit können falsch erhöhte Werte verursachen. Der Referenzbereich liegt für Frauen bei 2,8-16,9 mg/dl, für Männer bei 2,8-12,7 mg/dl.

Die Berechnung erfolgt mit der Gleichung:

$$\text{FFA} = \frac{E_P \times \text{Konz.}_{\text{St}}(\text{mg/dl})}{E_{\text{St}}}$$

E_P = Extinktion der Probe
 Konz._{St} = Konzentration des Standards
 E_{St} = Extinktion des Standards
FFA = freie Fettsäuren

d) Adiponektin und Leptin

Adiponektin und Leptin im Serum wurden mit einem Radioimmunoassay der Firma LINCO Research Inc., St. Charles, MO, USA bestimmt.

Beim Radioimmunoassay (RIA) konkurriert eine bekannte Menge eines radioaktiv markierten Hormons mit einer unbekanntem Menge nicht markierten

2. Probanden, Material und Methoden

Hormons aus der Probe um eine bestimmte Anzahl Bindungsstellen eines zugegebenen Antikörpers. Die Menge des nicht markierten Hormons bestimmt, wieviel markiertes Hormon gebunden werden kann. Der Prozentanteil des markierten Hormons, das gebunden wurde, kann durch Messung der Radioaktivität bestimmt werden, woraus dann die vorhandene Menge nicht markierten Hormons berechnet werden kann.⁹⁸

2.3.4. Berechnungen

2.3.4.1. Insulinsensitivitätsindex (Matsuda-Index)

Die abgeschätzte Insulinsensitivität ISI_{est} ist ein Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels. Sie wurde aus den OGTT-Daten mit Hilfe des Index nach Matsuda⁹⁹ gewonnen, der wie folgt berechnet wurde:

$$ISI_{est} = \frac{1000}{\sqrt{(FPG * FPI) * (mGlc * mIns)}}$$

Hierbei steht FPG für den Nüchterglukosewert, FPI für den Nüchterninsulinwert, *mGlc* für die mittlere OGTT-Glukose-Konzentration und *mIns* für die mittlere OGTT-Insulin-Konzentration.

mGlc = Mittelwert ($BZ_0, BZ_{30}, BZ_{60}, BZ_{90}, BZ_{120}$)

mIns = Mittelwert ($Ins_0, Ins_{30}, Ins_{60}, Ins_{90}, Ins_{120}$)

2.3.4.2. Insulinsekretion

Aus den im OGTT gewonnenen Daten konnte auch die individuelle Insulinsekretion im Nüchternzustand (1st PH release) und nach den ersten 30 Minuten des OGTT (2nd PH release) abgeschätzt werden.¹⁰⁰

Hierzu wurden folgende Formeln verwendet:

$$1^{st} PH_{est} = 1,283 + 1,829 * Ins_{30} - 138,7 * Gluc_{30} + 3,772 * Ins_0$$

$$2^{nd} PH_{est} = 287 + 0,4164 * Ins_{30} - 26,07 * Gluc_{30} + 0,9226 * Ins_0$$

2. Probanden, Material und Methoden

$1^{\text{st}} \text{PH}_{\text{est}}$	= berechnete nüchterne Insulinsekretion
$2^{\text{nd}} \text{PH}_{\text{est}}$	= berechnete Insulinsekretion nach den ersten 30 Minuten des OGTT
Ins_0	= Insulinspiegel im Nüchternzustand
Ins_{30}	= Insulinspiegel nach den ersten 30 Minuten des OGTT
Gluc_{30}	= Glukosespiegel nach den ersten 30 Minuten des OGTT

2.3.4.3. Disposition Index

β -Zellfunktion und Insulinsensitivität stehen in einem umgekehrt proportionalen Bezug zueinander, wobei im Rahmen der physiologischen Blutglukosekonzentration das Produkt der beiden, der „Disposition-Index“, konstant ist.¹⁰¹

Disposition Index = 1. Phase der Insulinsekretion x ISI_{est}

2.3.5. Statistische Auswertung

Die Ergebnisse wurden statistisch mit dem Softwarepaket JMP (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) ausgewertet. Soweit nicht gesondert angegeben erfolgt die Darstellung der Daten als Mittelwert (M) \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM). Statistische Vergleiche zwischen 2 Gruppen von normalverteilten Parametern wurden mit Hilfe des Student t-Tests durchgeführt. Die Parameter wurden mit Hilfe des Shapiro-Wilk W-Tests auf ihre Normalverteilung getestet. Parameter, die nicht normalverteilt waren, wurden für die statistischen Analysen logarithmiert, um so eine annähernde Normalverteilung zu erreichen. Um Effekte von Covariaten anzupassen und unabhängige Zusammenhänge identifizieren zu können, wurden multivariate lineare Regressionsanalysen durchgeführt. Hierbei wurde ein p-Wert $<0,05$ als statistisch signifikant angesehen. Im folgenden wird r für den Korrelationskoeffizienten und p für den p-Wert verwendet.

3. Ergebnisse

3.1. Querschnittsanalyse

3.1.1. Probanden der OGTT-Querschnittsanalyse

In Tabelle 2.1 sind anthropometrische und metabolische Daten der 1055 Probanden, welche in die OGTT Querschnittsuntersuchung eingeschlossen wurden, aufgeführt. Es werden jeweils der Mittelwert (M) und die Standardabweichung vom Mittelwert (SEM) sowie die Streubreite (Range) mit Minimal- und Maximalwert genannt.

Von den 1055 Probanden waren 691 weiblichen und 364 männlichen Geschlechts. Das Durchschnittsalter lag bei 37 Jahren, wobei zum Zeitpunkt der Untersuchungen der jüngste Proband 18 Jahre und der älteste Proband 73 Jahre alt war. Davon wiesen 898 Personen eine normale Glucosetoleranz (NGT) und 157 Personen eine eingeschränkte Glucosetoleranz (IGT) auf.

3.1.2. Anthropometrische Daten

Der mittlere BMI lag mit $26,68 \pm 0,24$ kg/m² für Frauen und mit $26,34 \pm 0,27$ kg/m² für Männer bei beiden Geschlechtern im Bereich des Übergewichts (Frauen >24 kg/m², Männer >25 kg/m²). Im Mittel betrug die Waist-to-Hip-Ratio (WHR) für Frauen $0,83 \pm 0,003$ und für Männer $0,91 \pm 0,004$ und lag damit im Gegensatz zum mittleren BMI für beide Geschlechter noch im Normbereich (Frauen bis 0,85; Männer bis 1).

3.1.3. Metabolische Daten

Die durchschnittliche Nüchternplasmaglukose der Probanden lag mit $5,01 \pm 0,02$ mmol/l im Normbereich. 120 Minuten postprandial im Rahmen des OGTT lag die Plasmaglukose im Durchschnitt bei $6,02 \pm 0,05$ mmol/l. Der gemessene

3. Ergebnisse

HbA1c, der im Durchschnitt bei $5,20 \pm 0,01\%$ lag, war ebenfalls normwertig (4,3-6,1%).

Der Spiegel des Nüchternplasmainsulins betrug im Mittel $54,5 \pm 1,2$ pmol/l. Auch das nach 120 Minuten postprandial bestimmte Plasmainsulin war analog zur Glukose im Mittel auf $380,5 \pm 13,2$ pmol/l angestiegen.

Der Insulinsensitivitätsindex ISI_{est} (Matsuda-Index) lag im Durchschnitt bei $18,6 \pm 0,4$ AU.

Bei den Probanden lag das Gesamtcholesterin im Mittel bei $191,3 \pm 1,1$ mg/dl und daher knapp über dem Normbereich (130-190 mg/dl). Die Mittelwerte des HDL bei $55,9 \pm 0,5$ mg/dl befanden sich im Bereich des Richtwerts (HDL>55 mg/dl). Der LDL-Spiegel hingegen lag mit $117,9 \pm 1,0$ knapp über der Norm (LDL<115 mg/dl). Bei den Teilnehmern wurden im Durchschnitt normwertige (<150 mg/dl). Triglyceridspiegel von $117,5 \pm 2,6$ mg/dl gemessen. Im Mittel betrug der Spiegel der nüchtern bestimmten freien Fettsäuren $537,2 \pm 6,8$ µmol/l und lag somit im Referenzbereich (300-1000 µmol/l). Die nach 120 Minuten postprandial bestimmten freien Fettsäuren betrug im Durchschnitt $73,4 \pm 1,5$ µmol/l und waren somit im Verlauf des OGTT deutlich gesunken.

3. Ergebnisse

	M ± SEM	Range
Probandenzahl (n)	1055	
Geschlecht (m/w)	364/ 691	
NGT/ IGT	898/ 157	
Alter (Jahre)	37,0 ± 0,4	18 - 73
BMI gesamt (kg/m ²)	26,56 ± 0,18	16,22 - 49,00
BMI Frauen (kg/m ²)	26,68 ± 0,24	16,22 - 49,00
BMI Männer (kg/m ²)	26,34 ± 0,27	17,63 - 47,31
WHR gesamt, n = 1044	0,86 ± 0,003	0,62 - 1,22
WHR Frauen, n = 682	0,83 ± 0,003	0,67 - 1,22
WHR Männer, n = 362	0,91 ± 0,004	0,62 - 1,21
Körperfettgehalt (%)	28,8 ± 0,3	6,8 - 55,5
Nüchternplasmaglukose (mmol/l)	5,01 ± 0,02	3,00 - 7,22
Plasmaglukose 120 min. (mmol/l)	6,02 ± 0,05	2,44 - 11,06
Nüchternplasmainsulin (pmol/l)	54,5 ± 1,2	8,0 - 331,0
Plasmainsulin 120 min. (pmol/l)	380,5 ± 13,2	10,0 - 6422,0
ISI _{est} (AU)	18,6 ± 0,4	1,2 - 69,7
HbA1c (%)	5,20 ± 0,01	3,60 - 7,00
Gesamtcholesterin (mg/dl)	191,3 ± 1,1	67,0 - 360,0
HDL (mg/dl)	55,9 ± 0,5	27,0 - 138,0
LDL (mg/dl)	117,9 ± 1,0	17,0 - 279,0
Triglyceride (mg/dl)	117,5 ± 2,6	15,0 - 952,0
Adiponektin (µg/dl), n = 1017	11,23 ± 0,19	0,71 - 44,93
Nüchtern freie Fettsäuren (µmol/l)	537,2 ± 6,8	110,0 - 1479,0
Freie Fettsäuren 120 min. (µmol/l)	73,4 ± 1,5	0,0 - 775,0

3. Ergebnisse

Tabelle 3.1: Probandendaten OGTT-Querschnittsanalyse

M±SEM	= Mittelwert ±Standardfehler des Mittelwerts
NGT	= normale Glukosetoleranz
IGT	= eingeschränkte Glukosetoleranz
BMI	= Body-mass-Index
WHR	= Waist-to-hip-ratio = Verhältnis von Taillenumfang zu Hüftumfang
ISI _{est}	= Matsuda-Index (Insulinsensitivitätsindex)

3.1.4. Multivariate Korrelation freier FS mit der Insulinsekretion

Zur Untersuchung des Zusammenhangs der Spiegel freier Fettsäuren mit der ersten Phase der Insulinsekretion führten wir eine multivariate lineare Regressionsanalyse durch. Hierbei wurden die freien Fettsäuren für Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und den prozentualen Fettgehalt des Körpers adjustiert. Es zeigte sich eine statistisch signifikante negative Korrelation ($p < 0,0001$, $r = -0,17$) der Konzentration freier Fettsäuren mit der ersten Phase der Insulinsekretion. Je höher die Konzentrationen der freien Fettsäuren bei den nüchternen Probanden waren, desto niedriger fiel die erste Phase der Insulinsekretion aus.

Unabhängige Variable	Estimate	SEM	t Ratio	p
Intercept	10,1542	0,2536	40,04	<0,0001
Geschlecht	0,0142	0,0142	1,00	0,3178
Alter (Jahre, log)	-0,4268	0,0332	-12,83	<0,0001
Prozentualer Körperfettgehalt (% , log)	0,1659	0,0417	3,98	<0,0001
ISI _{est} (AU, log)	-0,4841	0,0202	-23,96	<0,0001
freie Fettsäuren (µmol/l, log)	-0,1525	0,0270	-5,65	<0,0001

Tabelle 3.2: Multivariate lineare Regressionsanalyse in der Querschnittsuntersuchung mit der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable ($r^2=0,51$, $p < 0,0001$)

3. Ergebnisse

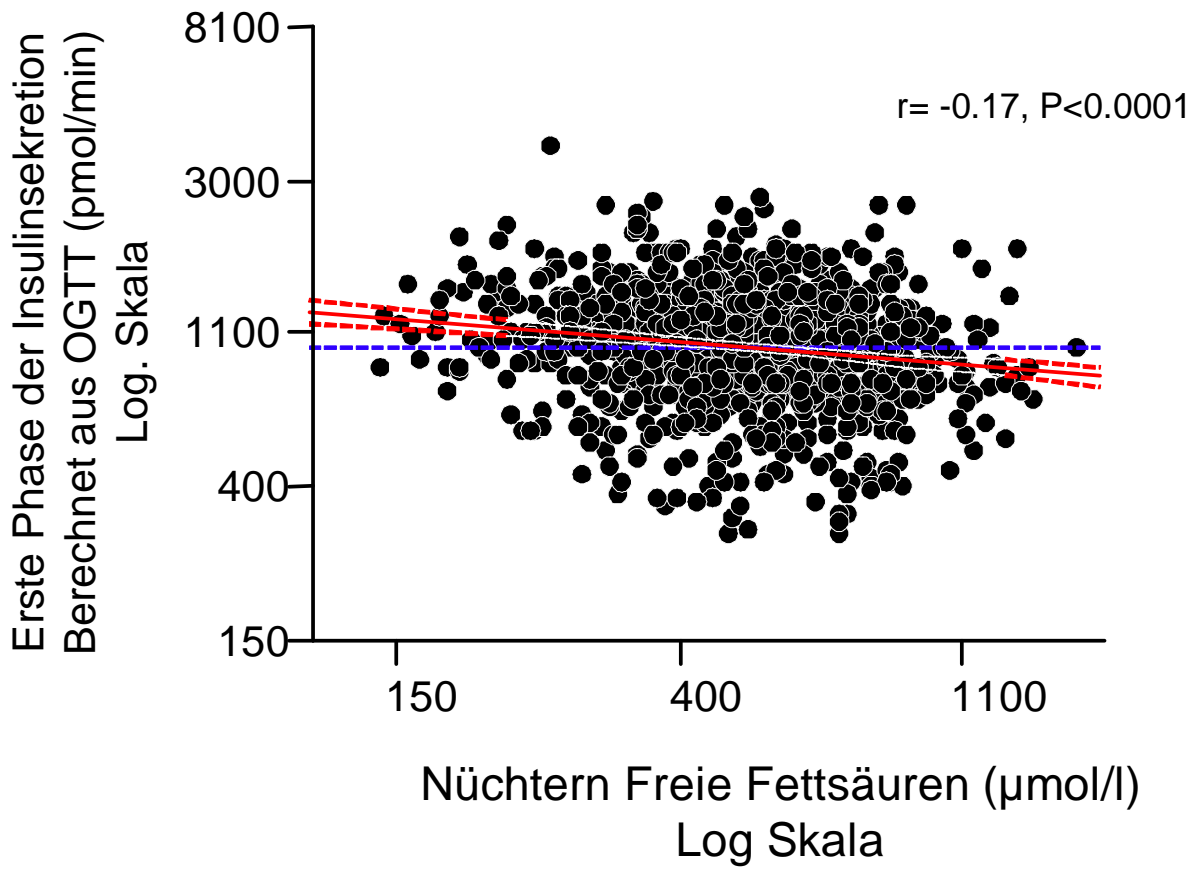


Abbildung 3.1: Nüchtern freie Fettsäuren und erste Phase der Insulinsekretion bei der Querschnittsuntersuchung adjustiert für Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und prozentualen Fettgehalt des Körpers

3. Ergebnisse

3.2. Längsschnittanalyse

3.2.1. Erstuntersuchung (baseline) der Gesamtgruppe NGT + IGT

	M ± SEM	Range
Probandenzahl	105	
Geschlecht (m/w)	39/66	
NGT/ IGT	69/36	
Alter (Jahre)	45,5 ± 1,1	23 - 69
BMI (kg/m ²)	30,32 ± 0,56	19,37 - 48,39
Körperfettgehalt (%)	33,12 ± 0,83	15,00 - 54,00
WHR	0,90 ± 0,009	0,74 - 1,13
FFA (µmol/l)	599,7 ± 20,8	199,0 - 1291,0
Nüchternplasmainsulin (pmol/l)	62,0 ± 3,6	19,0 - 187,0
Plasmainsulin 120 min. (pmol/l)	523,6 ± 38,1	78,0 - 2132,0
first-phase Insulinsekretion (pmol/l)	1221 ± 64	133 - 3069
ISI _{est} (AU)	13,0 ± 0,7	3,1 - 32,1
Disposition-Index (AU)	13333 ± 664	3281 - 38535
Nüchternplasmaglukose (mmol/l)	5,17 ± 0,04	4,22 - 6,50
Plasmaglukose 120 min. (mmol/l)	7,10 ± 0,15	4,17 - 11,06
Gesamtcholesterin (mg/dl)	191,4 ± 3,0	96,0 - 288,0
Triglyceride (mg/dl)	131,5 ± 9,6	41,0 - 857,0

Tabelle 3.3: Probandendaten der OGTT Längsschnittanalyse (baseline)

M±SEM	= Mittelwert ±Standardfehler des Mittelwerts
NGT	= normale Glukosetoleranz
IGT	= eingeschränkte Glukosetoleranz
BMI	= Body-mass-Index
WHR	= Waist-to-hip-ratio = Verhältnis von Taillenumfang zu Hüftumfang
ISI _{est}	= Matsuda-Index (Insulinsensitivitätsindex)
FFA	= freie Fettsäuren

3. Ergebnisse

In Tabelle 3.1 sind anthropometrische und metabolische Daten der untersuchten Studienteilnehmer zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung (baseline) aufgeführt.

Für die Längsschnittuntersuchungen wurden die Daten von 105 Studienteilnehmern, davon 69 mit normaler Glucosetoleranz (NGT) und 36 mit eingeschränkter Glucosetoleranz (IGT) verwendet. Es wurden insgesamt 66 Frauen und 39 Männer untersucht. Zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung betrug das Durchschnittsalter 45,5 Jahre. Der jüngste Teilnehmer war 23 Jahre, der älteste 69 Jahre alt.

3.2.2. Stoffwechselveränderungen zwischen Erst- und Folgeuntersuchung (follow-up)

Zwischen Erstuntersuchung und Folgeuntersuchung (follow-up) vergingen 9 Monate. In diesem Zeitraum ergaben sich für einige Stoffwechselfparameter statistisch signifikante Veränderungen. Um diese Daten vergleichbar zu machen, wurden sie in eine Gaußsche Normalverteilung überführt. Sie wurden dazu logartithmiert und in einem 2-seitigen gepaarten t-Test ausgewertet.

3. Ergebnisse

3.2.2.1. Veränderung des BMI

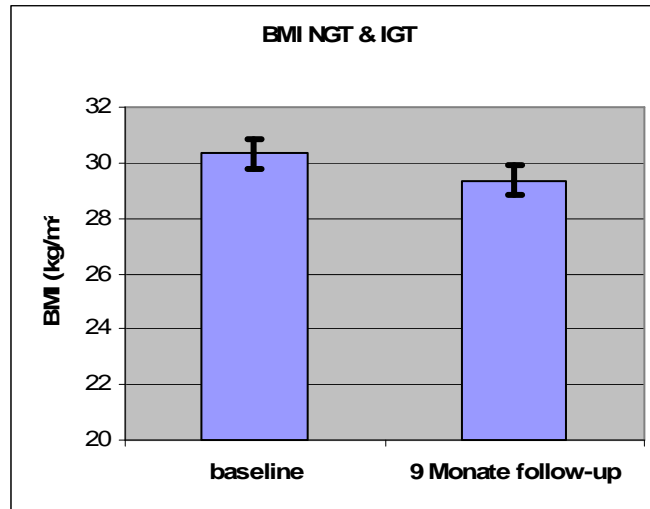


Abbildung 3.2: Veränderung des BMI

Durch das Lebensstilinterventionsprogramm nahm der BMI bei den Probanden im Beobachtungszeitraum signifikant von im Mittel $30,32 \pm 0,56 \text{ kg/m}^2$ auf $29,36 \pm 0,53 \text{ kg/m}^2$ ab ($p < 0,0001$).

3.2.2.2. Veränderung des prozentualen Körperfettgehaltes

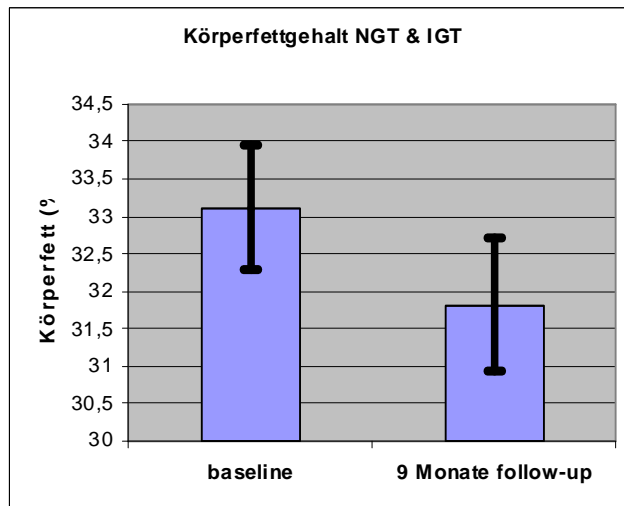


Abbildung 3.3: Veränderung des prozentualen Körperfettgehaltes

Ebenso wie der BMI nahm auch der prozentuale Körperfettgehalt der Probanden signifikant von $33,12 \pm 0,83 \%$ auf $31,82 \pm 0,89 \%$ ab ($p = 0,0073$).

3. Ergebnisse

3.2.2.3. Veränderung der freien Fettsäuren

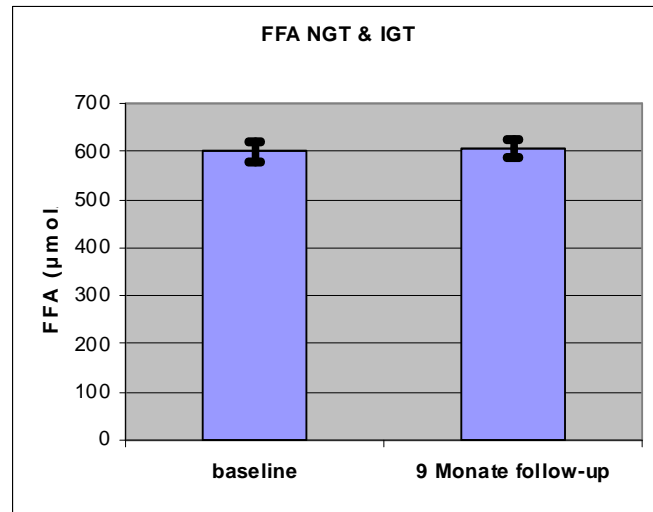


Abbildung 3.4: Veränderung der freien Fettsäuren

Bei den freien Fettsäuren zeigt sich durch die Lebensstiländerung keine statistisch signifikante Veränderung zum Ausgangswert.

3.2.2.4. Veränderung der ersten Phase der Insulinsekretion

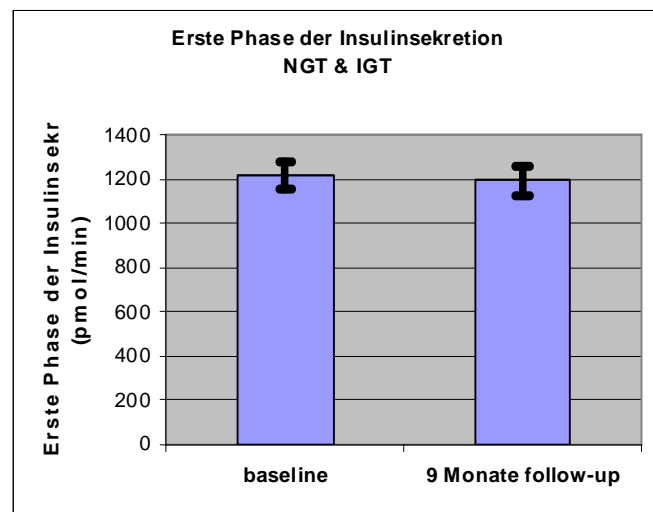


Abbildung 3.5: Veränderung der ersten Phase der Insulinsekretion

Die erste Phase der Insulinsekretion blieb Erstuntersuchung und Folgeuntersuchung unverändert (1221 ± 64 pmol/min vs. 1197 ± 67 pmol/min, $p = 0,53$).

3. Ergebnisse

3.2.2.5. Veränderung des Insulinsensitivitätsindex

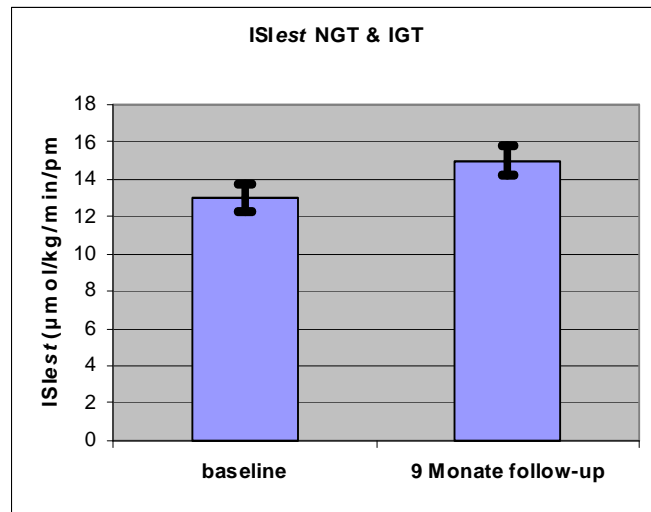


Abbildung 3.6: Veränderung des Insulinsensitivitätsindex

Im Zeitraum der Lebensstilintervention zeigt sich in der Gesamtgruppe NGT und IGT eine signifikante Zunahme der Insulinsensitivität von $13,0 \pm 0,7$ auf $15,0 \pm 0,8$ AU ($p= 0,0005$).

3.2.2.6. Veränderung des Disposition-Index

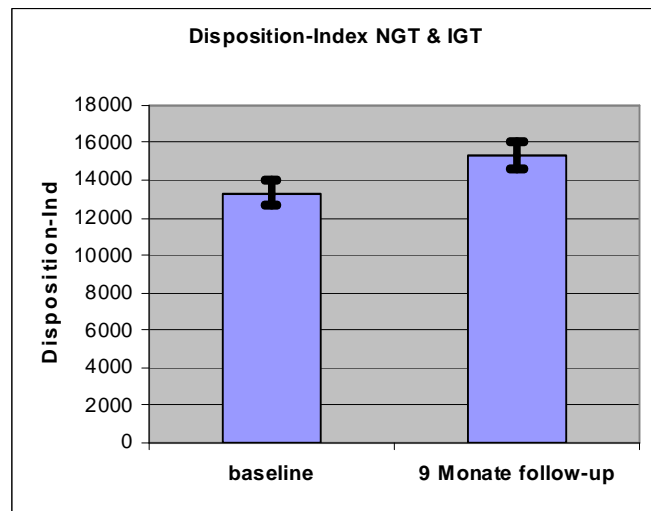


Abbildung 3.7: Veränderung des Disposition-Index

Der Disposition-Index verbesserte sich im genannten Zeitraum statistisch signifikant von 13333 ± 664 AU auf 15337 ± 770 AU ($p= 0,0016$).

3. Ergebnisse

3.2.2.7. Veränderung der Nüchternplasmaglukose

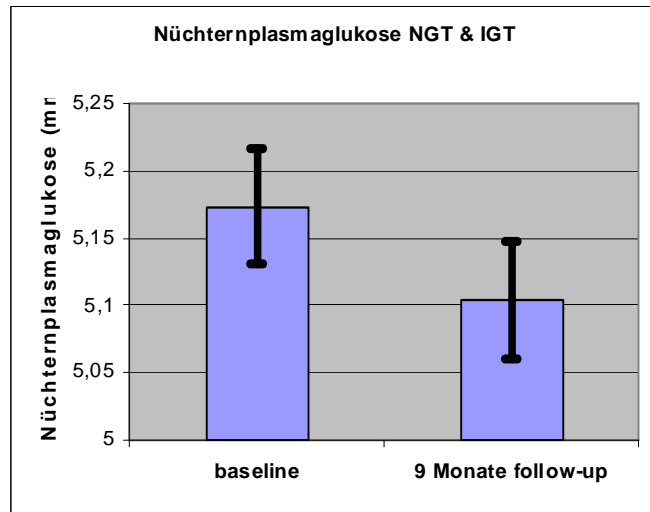


Abbildung 3.8: Veränderung der Nüchternplasmaglukose

Im Beobachtungszeitraum sank der mittlere Nüchternplasmaglukosespiegel von $5,17 \pm 0,04$ mmol/l auf $5,10 \pm 0,04$ mmol/l ($p= 0,046$).

3.2.2.8. Veränderung der postprandialen Plasmaglukose

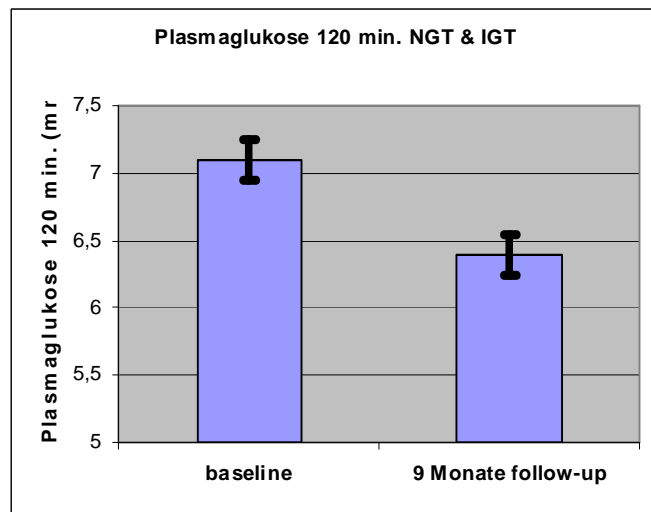


Abbildung 3.9: Veränderung der postprandialen Plasmaglukose

Der postprandiale Plasmaglukosespiegel 120 min. nach Beginn des OGTT hat bei den Teilnehmern signifikant und deutlicher abgenommen als der

3. Ergebnisse

Nüchternplasmaglukosespiegel. Er sank von im Mittel $7,10 \pm 0,15$ mmol/l auf $6,39 \pm 0,15$ mmol/l ($p < 0,0001$).

	Erstuntersuchung (baseline) mean \pm SEM	Folgeuntersuchung (follow-up) mean \pm SEM	p
BMI (kg/m ²)	30,32 \pm 0,56	29,36 \pm 0,53	<0,0001
Körperfettgehalt (%)	33,12 \pm 0,83	31,82 \pm 0,89	0,0073
Freie Fettsäuren (μ mol/l)	599,7 \pm 20,8	606,4 \pm 20,3	0,44
Erste Phase der Insulinsekretion (pmol/l)	1221 \pm 64	1197 \pm 67	0,53
Insulinsensitivitätsindex, ISI_{est} (AU)	13,0 \pm 0,7	15,0 \pm 0,8	0,0005
Disposition-Index (AU)	13333 \pm 664	15337 \pm 770	0,0016
Nüchtern- Plasmaglukose (mmol/l)	5,17 \pm 0,04	5,10 \pm 0,04	0,046
Plasmaglukose 120 min. (mmol/l)	7,10 \pm 0,15	6,39 \pm 0,15	<0,0001

Tabelle 3.4: Übersicht über die Veränderung der metabolischen Parameter zwischen Erst- und Folgeuntersuchung

3. Ergebnisse

3.2.3. Nüchtern Plasmaspiegel freier Fettsäuren als Prädiktor für die Änderung der Insulinsekretion

3.2.3.1. Multivariate Korrelation in der Gesamtgruppe

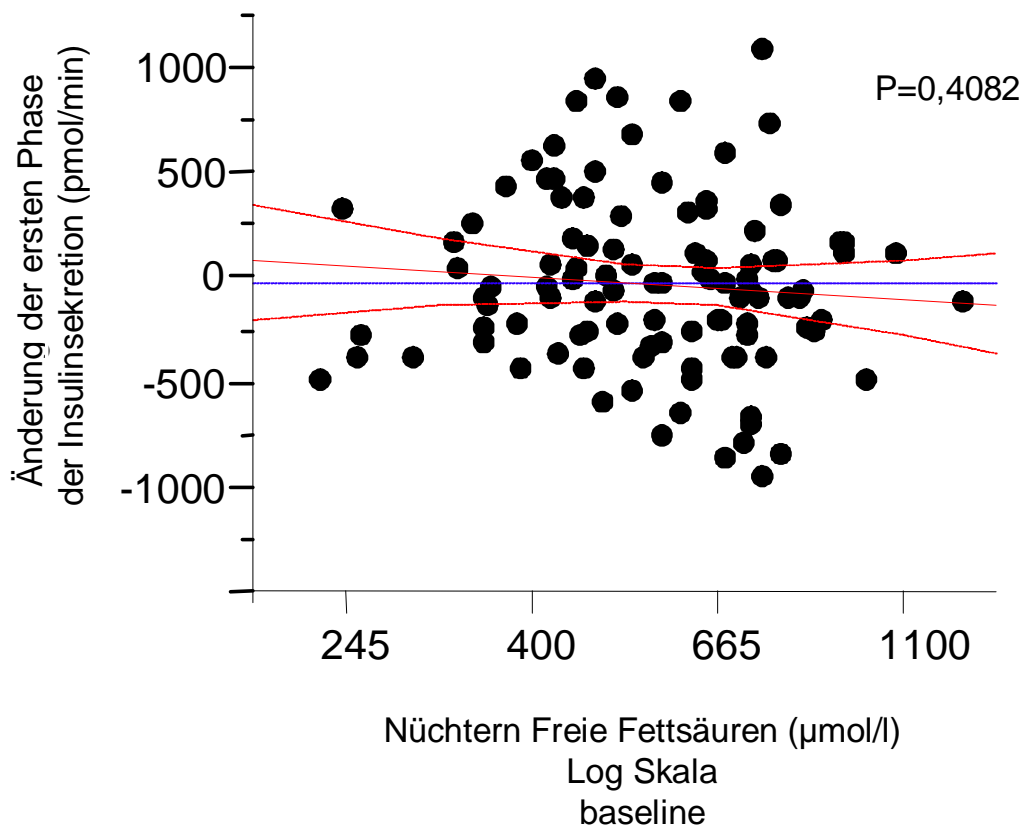


Abbildung 3.10: Nüchtern freie Fettsäuren bei der Erstuntersuchung und Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion adjustiert für die Änderung des Körpergewichts und der Insulinsensitivität in der Gesamtgruppe

3. Ergebnisse

Um zu untersuchen, ob die Nüchternspiegel der freien Fettsäuren bei der Erstuntersuchung unabhängig von der Änderung des Körperfettanteils und der Insulinsensitivität ein Prädiktor für die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion darstellt, wurde eine multivariate lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

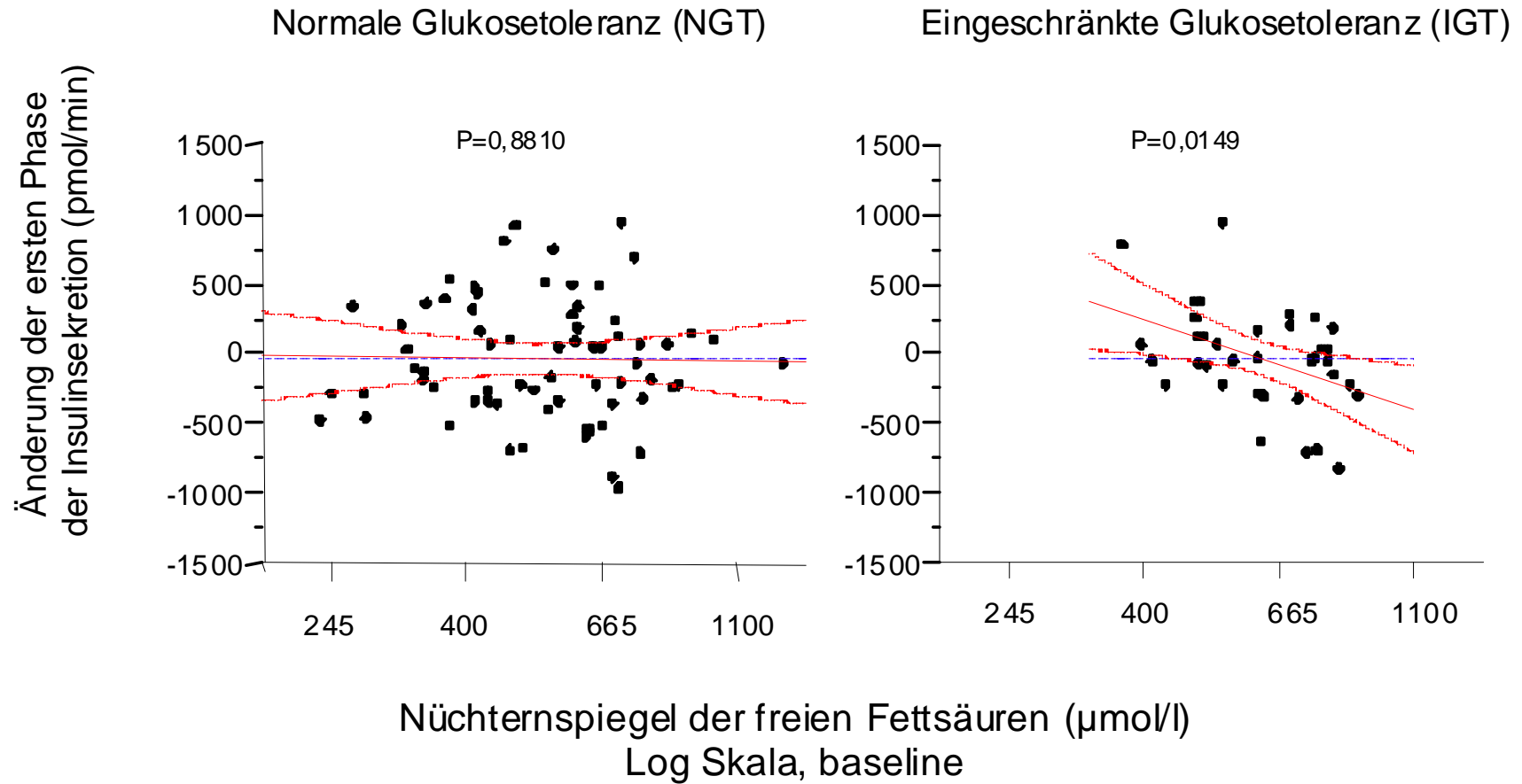
Die Konzentration freier Fettsäuren bei der Erstuntersuchung war in der Gesamtgruppe (NGT und IGT) unabhängig von der Änderung des Körperfettanteils und der Insulinsensitivität kein Prädiktor für die Änderung der Insulinsekretion im Interventionszeitraum ($p= 0,4082$).

Source	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Alter bei der Erstuntersuchung (Jahre, log)	866756,3	4,8848	0,0294
Prozentualer Körperfettgehalt bei der Erstuntersuchung (% , log)	492481,7	2,7755	0,0989
Prozentualer Körperfettgehalt bei der Folgeuntersuchung (% , log)	2263678,7	12,7575	0,0005
Erste Phase der Insulinsekretion bei der Erstuntersuchung (pmol/min)	2710605,6	15,2763	0,0002
Freie Fettsäuren bei der Erstuntersuchung ($\mu\text{mol/l}$)	122432,8	0,6900	0,4082

Tabelle 3.5: Multivariate lineare Regressionsanalyse in der Gesamtgruppe NGT und IGT mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable

3. Ergebnisse

3.2.3.2. Multivariate Korrelation: Einzelgruppen NGT und IGT



3. Ergebnisse

Abbildung 3.11: Nüchternspiegel der freien Fettsäuren bei der Erstuntersuchung und Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion adjustiert für die Änderung des Körpergewichts und der Insulinsensitivität in den Einzelgruppen NGT und IGT

Im Folgenden wurde die Gesamtgruppe in zwei Untergruppen, eine mit normaler Glucosetoleranz (NGT) und eine weitere mit eingeschränkter Glucosetoleranz (IGT), unterteilt, um einen Einfluss des Plasmaglukosespiegels auf die freien Fettsäuren als Prädiktor für die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion zu ermitteln. (siehe Abbildung 3.10)

In der NGT Gruppe zeigt sich weiterhin keine Korrelation zwischen dem Nüchternspiegel freier Fettsäuren bei der Erstuntersuchung und der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion unabhängig von der Änderung des Körperfettanteils und der Insulinsensitivität ($p=0,8810$). Der Nüchternspiegel der freien Fettsäuren stellt in der NGT-Gruppe daher keinen Prädiktor für die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion unabhängig von der Änderung des Körpergewichts und der Insulinsensitivität nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und den prozentualen Fettgehalt des Körpers dar. (siehe Abbildung 3.10, linke Grafik)

Im Gegensatz dazu stellten wir in der IGT-Gruppe eine statistisch signifikante negative Korrelation des Nüchternspiegels der freien Fettsäuren mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion unabhängig von der Änderung des Körperfettanteils und der Insulinsensitivität nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und den prozentualen Fettgehalt des Körpers fest ($p=0,0149$). Das bedeutet, dass bei eingetretener gestörter Glucosetoleranz (IGT) ein erhöhter Nüchternspiegel der freien Fettsäuren trotz einer Änderung des Lebensstils eine Verschlechterung der Insulinsekretion vorhersagt. (siehe Abbildung 3.10, rechte Grafik)

3. Ergebnisse

Source	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Alter bei der Erstuntersuchung (Jahre, log)	124649,7	0,6378	0,4275
Prozentualer Körperfettgehalt bei der Erstuntersuchung (% , log)	684706,3	3,5037	0,0659
Prozentualer Körperfettgehalt bei der Folgeuntersuchung (% , log)	1852714,2	9,4804	0,0031
Erste Phase der Insulinsekretion bei der Erstuntersuchung (pmol/min)	900185,9	4,6063	0,0357
Freie Fettsäuren (nüchtern) bei der Erstuntersuchung (µmol/l)	4416,7	0,0226	0,8810

Tabelle 3.6: multivariate lineare Regressionsanalyse in der NGT-Gruppe mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable

Source	Sum of Squares	F Ratio	Prob > F
Alter bei der Erstuntersuchung (Jahre, log)	1518748,9	11,8487	0,0017
Prozentualer Körperfettgehalt bei der Erstuntersuchung (% , log)	955,0	0,0075	0,9318
Prozentualer Körperfettgehalt bei der Folgeuntersuchung (% , log)	630232,7	4,9168	0,0343
Erste Phase der Insulinsekretion bei der Erstuntersuchung (pmol/min)	1816222,7	14,1695	0,0007
Freie Fettsäuren (nüchtern) bei der Erstuntersuchung (µmol/l)	855071,1	6,6709	0,0149

Tabelle 3.7: Multivariate lineare Regressionsanalyse in der IGT-Gruppe mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable

4. Diskussion

Im ersten Abschnitt der Diskussion soll anhand der Untersuchungen an der Querschnittspopulation mit 1055 Probanden erörtert werden, inwiefern der Plasmaspiegel freier Fettsäuren im Nüchternzustand (Nü-FFS) mit der ersten Phase der Insulinsekretion zusammenhängt. Die erhaltenen Ergebnisse werden mit den Resultaten anderer Autoren in Beziehung gesetzt.

Unter der Fragestellung, inwieweit der Spiegel der freien Fettsäuren im Nüchternzustand im Rahmen einer Lebensstilintervention die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion voraussagt, wird in den folgenden beiden Abschnitten die Änderung der metabolischen Parameter bei der Lebensstilintervention und die Prädiktion der freien Fettsäuren für eine Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion diskutiert und mit Aussagen anderer Autoren verglichen. Weiterhin sollen die Auswirkung erhöhter freier Fettsäuren im Nüchternzustand auf die Diabetesentwicklung bei eingeschränkt glukosetoleranten Personen und mögliche Präventionsmaßnahmen besprochen werden.

4.1. Querschnittsanalyse

4.1.1. Zusammenhang des Plasmaspiegels freier Fettsäuren im Nüchternzustand mit der ersten Phase der Insulinsekretion

Erhöhte freie Fettsäuren sind ein Risikofaktor für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2.^{102,54,55} Unklar ist aber, über welche pathophysiologischen Mechanismen erhöhte freie Fettsäuren zu einem erhöhten Glukosespiegel führen. Ein Zusammenhang zwischen erhöhten Nüchternspiegeln freier Fettsäuren und einer verminderten Glukose-induzierten Insulinsekretion konnte bereits *in vitro*¹⁰³, an Tieren⁷⁸ und in kurzzeitigen klinischen Versuchen am Menschen⁶³ nachgewiesen werden. Es gibt in der Literatur jedoch nur wenig Angaben über den Zusammenhang chronisch erhöhter freier Fettsäuren im

4. Diskussion

Nüchternzustand und der ersten Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion in größeren menschlichen Populationen.

Wir konnten in der multivariaten linearen Regressionsanalyse der Querschnittspopulation nach Korrektur für Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und den prozentualen Fettgehalt des Körpers einen signifikanten negativen Zusammenhang des Spiegels freier Fettsäuren mit der ersten Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion feststellen. Eine an Pima-Indianern durchgeführten Studie geht noch etwas detaillierter auf die Korrelation freier Fettsäuren mit der ersten Phase der Insulinsekretion ein. Hier zeigt sich für die normal glukosetoleranten Probanden bei der Erstuntersuchung nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, prozentualem Körperfettanteil und Insulinsensitivität ebenfalls ein negativer Zusammenhang erhöhter Plasmafettsäurespiegel im Nüchternzustand mit der ersten Phase der Insulinsekretion.⁶⁹ In zwei weiteren Studien konnte bei erstgradig Verwandten von Typ 2 Diabetes Patienten ebenfalls eine negative Korrelation zwischen dem Spiegel nüchtern freier Fettsäuren und der ersten Phase der Insulinsekretion festgestellt werden.^{73, 104}

Unser Ergebnis besagt, je höher die Konzentration der nüchtern freien Fettsäuren ist, desto niedriger fällt unabhängig von Körpergewicht und Insulinsensitivität die erste Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion aus. Interessant ist nun die Untersuchung, ob erhöhte nüchtern freie Fettsäuren auch etwas über die Entwicklung der Insulinsekretion über einen längeren Zeitraum voraussagen und man dadurch das Risiko einer Diabetesentwicklung besser vorhersehen könnte.

4.2. Längsschnittanalyse

4.2.1. Veränderung anthropometrischer und metabolischer Parameter bei der Lebensstilintervention

Die Lebensstilintervention wurde in verschiedenen Studien als effektiver Weg zur Diabetesprävention erarbeitet.^{105,106} Im 9-monatigen Beobachtungszeitraum während der Lebensstilintervention in unserer Studie veränderten sich erwartungsgemäß einige anthropometrische und metabolische Parameter.

Wir konnten in unserer Studie eine signifikante durchschnittliche BMI-Abnahme um 3,2% in 9 Monaten durch die Lebensstilintervention verzeichnen. Bei den von uns untersuchten Probanden sank der prozentuale Körperfettgehalt signifikant um 3,9% relativ zum Ausgangswert. Auch im Rahmen des Diabetes Prevention Program (DPP) wurde bei amerikanischen Probanden durch eine Lebensstilinterventionsstudie innerhalb von 12 Monaten eine signifikante BMI-Abnahme um 8% erreicht, die mit einer Reduktion des prozentualen Körperfetts einherging.¹⁰⁷ In einer Finnischen Lebensstilinterventionsstudie, in der ebenso bei adipösen Personen eine Lebensstilintervention vorgenommen wurde, zeigte sich auch ein signifikanter BMI-Rückgang in der Interventionsgruppe. Die Teilnehmer der Studie waren jedoch mit 55 ± 7 Lebensjahren durchschnittlich knapp 5 Jahre älter und Beobachtungszeitraum bis zur ersten Folgeuntersuchung war hier mit 12 Monaten etwas länger.¹⁰⁸ In beiden beschriebenen Interventionsstudien wurden im Gegensatz zu unseren Untersuchungen an normal glukosetoleranten (NGT) und eingeschränkt glukosetoleranten (IGT) Probanden ausschließlich Personen mit IGT eingeschlossen. Das Risiko für eine Diabetesentwicklung konnte in beiden zum Vergleich herangezogenen Studien um 58% vermindert werden und sank in Korrelation zur Gewichtsabnahme. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass sich das Risiko für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ 2 durch eine Lebensstiländerung mit Gewichtsabnahme wie in unserer Studie deutlich senken lässt.

4. Diskussion

Der Nüchternspiegel freier Fettsäuren blieb bei den von uns untersuchten Probanden im Verlauf der Lebensstilintervention nahezu unverändert. Im Gegensatz dazu zeigte sich in einer anderen nur 6-monatigen Lebensstilinterventionsstudie an adipösen (BMI >30 kg/m²) Probanden hier eine signifikante Abnahme der Spiegel freier Fettsäuren.¹⁰⁹ Jedoch war das Probandenkollektiv in dieser Studie deutlich älter (>65 Jahre) und kleiner (n=17) und wurde als Risikokollektiv für die Koronare Herzkrankheit in die Studie eingeschlossen, was den Unterschied zumindest teilweise erklären könnte. Es wurde in einer weiteren Studie festgestellt, dass eine Lebensstiländerung im Bezug auf die Diabetesprävention bei älteren Risikopersonen effektiver ist als bei jüngeren, so dass ein positiver Effekt auf die Diabetesprävention über die Verminderung freier Fettsäuren hier letztlich nicht auszuschließen ist.¹¹⁰ Weiterhin muss beachtet werden, dass im Hungerzustand durch Lipolyse vermehrt freie Fettsäuren freigesetzt werden, die bei einer Gewichtsabnahme im Rahmen der Lebensstilintervention so zu erhöhten Plasmaspiegeln führen können.

Auch die erste Phase der Insulinsekretion zeigte bei unseren Probanden nach der Lebensstilintervention keine signifikanten Veränderungen. In einer sehr kleinen Studie jedoch konnte durch Lebensstilintervention bei adipösen Personen mit und ohne gestörte Glukosetoleranz die erste Phase der Insulinsekretion signifikant verbessert werden.¹¹¹ Um eine verbesserte β -Zellfunktion nachzuweisen, darf jedoch nicht die erste Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion allein betrachtet werden. Vielmehr muss auch die Insulinsensitivität berücksichtigt werden, was man durch die Errechnung des Disposition Index erreicht, der die Insulinsekretion relativ zur Insulinsensitivität angibt. Bei Untersuchungen der Diabetes Prevention Program Research Group wurde daher nicht die erste Phase der Insulinsekretion allein, sondern die korrigierte Insulinantwort (Corrected Insulin Response CIR = $(100 \times 30\text{-min Insulin}) / (30\text{-min Glukose} \times [30\text{-min Glukose} - 70 \text{ mg/dl}])$) und die Insulinsensitivität (ISI) bestimmt. Es konnte hier gezeigt werden, dass durch eine 12-monatige Lebensstilintervention die Insulinsekretion in Relation zur Insulinsensitivität verbessert wurde, was einer Verbesserung der β -Zellfunktion

4. Diskussion

entspricht.¹¹² Auch durch eine Gewichtsabnahme allein durch eine 3-monatige Diät bei adipösen älteren und nicht Diabetes mellitus-gefährdeten Probanden wurde die β -Zellfunktion verbessert.¹¹³ Dies entspricht den Ergebnissen bei unseren Probanden. Die Insulinsekretion relativ zur Insulinsensitivität ausgedrückt im Disposition-Index verbesserte sich signifikant. Dies lag hauptsächlich an einer Verbesserung der Insulinsensitivität.

Bei unseren Probanden sank die postprandiale Plasmaglukose in den 9 Monaten erfolgter Lebensstiländerung wesentlich stärker ($- 0,70 \pm 0,15$ mmol/l) als die Nüchternplasmaglukose ($- 0,07 \pm 0,03$ mmol/l), bei der im Gegensatz dazu ein positiver Effekt kaum noch statistisch nachweisbar war. Auch die oben angesprochene finnische Lebensstilinterventionsstudie und das Diabetes Prevention Program kamen nach 12 Monaten Lebensstilintervention zu einem entsprechenden Ergebnis.^{108,112} Eine weitere Studie aus den Niederlanden beschreibt nach 12 Monaten erfolgter Lebensstilintervention bei Probanden mit IGT ebenfalls eine Senkung des 2-Stunden-Blutglukosewertes um $0,8 \pm 0,3$ mmol/l in Verbindung mit einer Gewichtsabnahme.¹¹⁴ Es ist bekannt, dass sowohl Nüchternplasmaglukosespiegel als auch postprandiale Plasmaglukosespiegel positiv mit dem Entstehungsrisiko für einen Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert sind und seine Entstehung voraussagen können.¹¹⁵ Durch eine Lebensstilmodifikation, bei der wie in unserer Studie die nüchternen und postprandialen Plasmaglukosespiegel gesenkt werden, wird daher das Diabetesrisiko signifikant vermindert.

4.2.2. Nüchternspiegel der freien Fettsäuren als Prädiktor für die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion

In der Gesamtgruppe (NGT und IGT) waren die Nüchternspiegel der freien Fettsäuren vor Beginn der Lebensstilintervention kein Vorhersageparameter für die Entwicklung der ersten Phase der Insulinsekretion im Verlauf der Lebensstilintervention. Auch in der Gruppe mit NGT sagte der Spiegel nüchtern freier Fettsäuren vor Beginn der Lebensstiländerung die weitere Entwicklung der Insulinsekretion nicht voraus. Bei Probanden mit IGT jedoch war ein zu

4. Diskussion

Beginn der Untersuchungen erhöhter Spiegel nüchtern freier Fettsäuren trotz der Lebensstiländerung verbunden mit einer Verschlechterung der Insulinsekretion im Verlauf des Beobachtungszeitraumes. Nüchtern freie Fettsäuren schädigen diesen Ergebnissen zufolge nur bereits vorgeschädigte β -Zellen bei eingeschränkter Glukosetoleranz, so dass sich die Insulinsekretion trotz der Lebensstiländerung weiter verschlechtert.

Zu diesem Ergebnis kam auch eine an Pima-Indianern durchgeführte Studie, bei der erhöhte Spiegel nüchtern freier Fettsäuren bei Probanden mit IGT in der Erstuntersuchung nach Adjustierung für Alter, Geschlecht, prozentualen Körperfettgehalt und Insulinsensitivität ebenfalls eine Verschlechterung der ersten Phase der Insulinsekretion vorhersagten.⁶⁹

Es wurde weiterhin festgestellt, dass Personen mit IGT im Vergleich zu normal glukosetoleranten Personen erhöhte Nüchternspiegel freier Fettsäuren sowie eine stark eingeschränkte erste Phase der Insulinsekretion aufweisen, so dass es sich hier um einen *circulus vitiosus* handelt.¹¹⁶ In einem klinischen Versuch wurden Probanden mit NGT und IGT über mehr als 24 Stunden freie Fettsäuren intravenös verabreicht. Die Gruppe mit IGT wies nach dem Versuch eine deutlich verminderte erste Phase der glukose-induzierten Insulinsekretion auf, was bedeutet, dass sie vulnerabler gegenüber dem lipotoxischen Effekt der freien Fettsäuren reagierte.⁷⁰ Dies unterstützt den von uns festgestellten Zusammenhang zwischen nüchtern freien Fettsäuren und der ersten Phase der Insulinsekretion und bedeutet, dass die Lipotoxizität der freien Fettsäuren auf vorgeschädigte β -Zellen durch erhöhte Spiegel verstärkt ist.

4.3. Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2: Zeitlicher Verlauf

Wie bereits in der Einleitung besprochen tragen zwei Stoffwechselstörungen, nämlich die Insulinresistenz und die Insulinsekretionsstörung, maßgeblich zur Diabetesentstehung bei. Welcher dieser beiden Hauptfaktoren vererbt wird und somit zuerst auftritt, konnte bis heute noch nicht vollständig geklärt werden. Der Fettstoffwechsel scheint bei beiden Störungen jedoch eine bedeutendere Rolle zu spielen, als bisher angenommen wurde.

4. Diskussion

Einerseits wurde in einer großen Querschnittsstudie an europäischen erstgradig Verwandten von Typ 2 Diabetikern unabhängig vom Körpergewicht eine im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte Insulinresistenz festgestellt.¹¹⁷ Dies würde dafür sprechen, dass die Insulinresistenz vererbt wird. Während die β -Zellen durch Hypersekretion von Insulin versuchen, den Mehrbedarf zu decken, kommt es sekundär bei relativem Insulinmangel zur Erschöpfung und Schädigung der β -Zellen durch Gluko- und Lipotoxizität. Dieser Ansatz erklärt jedoch nicht, warum die meisten adipösen Menschen trotz erheblicher Insulinresistenz keinen Diabetes mellitus entwickeln.

Andererseits zeigten Verwandte von Typ 2 Diabetes mellitus-Patienten in Studien sowohl eine β -Zelldysfunktion, als auch eine Insulinresistenz, während bei adipösen Personen ohne Familienanamnese für Diabetes mellitus Typ 2 lediglich eine äquivalente Insulinresistenz nachgewiesen werden konnte. Bei nicht diabetesgefährdeten Menschen kompensiert die β -Zelle somit eine erworbene Insulinresistenz durch Hypersekretion, während beim genetisch Prädisponierten bereits eine Insulinsekretionsstörung vorliegt, so dass eine ausreichende Kompensation nicht möglich ist. Es kommt dadurch zu erhöhten Spiegeln freier Fettsäuren und einer eingeschränkten Glukosetoleranz. Dieser Ansatz legt nahe, dass die Insulinsekretionsstörung die vererbliche Komponente des Diabetes mellitus Typ 2 darstellt, während die Insulinresistenz zum Beispiel durch Adipositas erworben wird.^{118,119,120}

Die Insulinsekretionsstörung schreitet mit zunehmendem Alter unaufhaltsam weiter fort.¹²¹ Möglicherweise wird auch die individuelle Bereitschaft, bei erhöhten Fettsäure- und Glukosespiegeln eine Insulinsekretionsstörung zu entwickeln, und nicht die Sekretionsstörung an sich weitervererbt.⁷⁹ Bei allen erwähnten Ansätzen können zusätzliche Faktoren wie Gluko- und Lipotoxizität die β -Zelldysfunktion verursachen oder verschlimmern. Da die eingeschränkte Glukosetoleranz (IGT) den ersten relativ einfach zu diagnostizierenden Entwicklungsschritt bei der Diabetesentstehung darstellt¹²², und im Stadium der eingeschränkten Glukosetoleranz (IGT) unabhängig von der genetischen Prädisposition sowohl eine Insulinresistenz als auch eine prozentual fast doppelt so ausgeprägte gestörte Insulinsekretion gefunden wurde¹²³, gehen wir

4. Diskussion

im Folgenden davon aus, dass zuerst eine meist durch Adipositas erworbene zentrale Insulinresistenz vorliegt, bevor es durch weitere Faktoren wie β -Zellerschöpfung, Gluko- und Lipotoxizität zur manifesten Insulinsekretionsstörung kommt (siehe Schaubild 4.1).

Im Entdeckungsstadium bei eingeschränkter Glukosetoleranz sind vaskuläre Morbidität und Mortalität bereits stark erhöht, so dass hier eine Behandlungsindikation besteht.¹²²

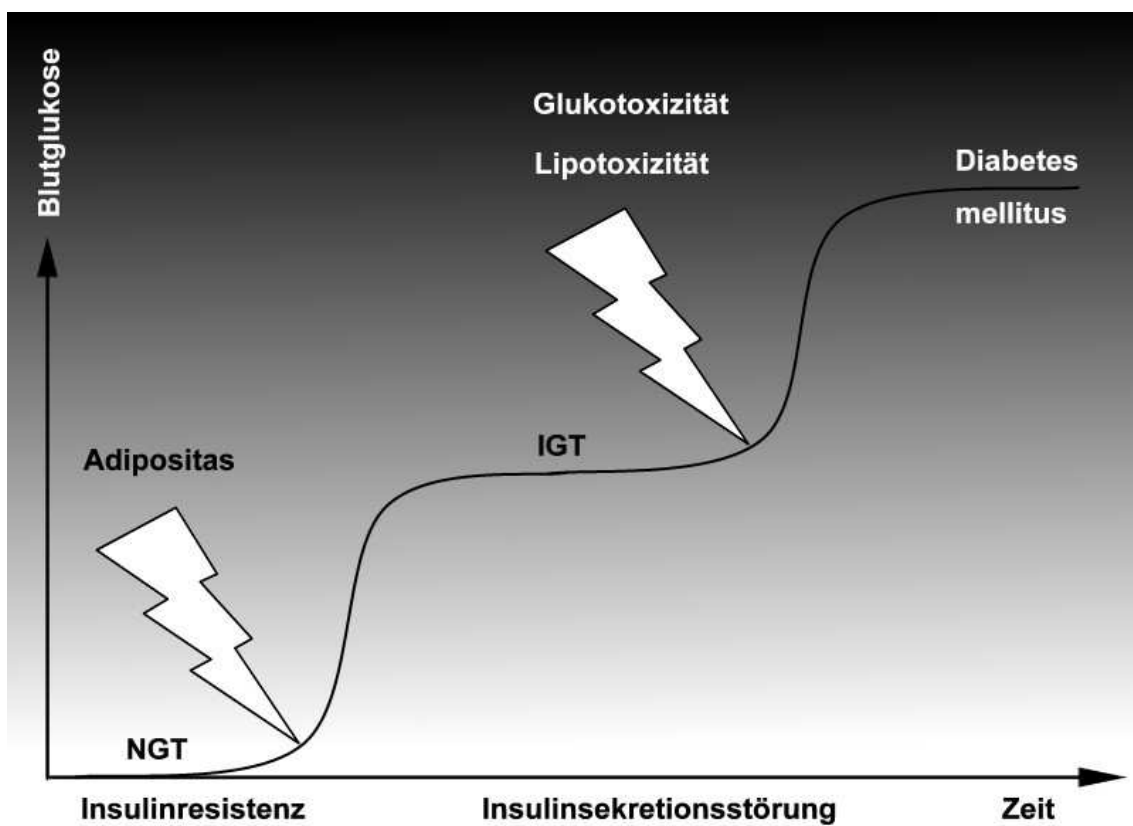


Abbildung 4.1: Hypothese zum zeitlichen Verlauf der Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2

4.4. Indikation einer Pharmakotherapie

Wir stellten in der Querschnittsanalyse bereits fest, dass bei erhöhten Spiegeln freier Fettsäuren die Insulinsekretion unabhängig von der vorhandenen Insulinsensitivität schlechter ist. Daher könnte man die Auffassung vertreten, dass alle Patienten mit erhöhtem Fettsäurespiegel eine lipidsenkende Therapie benötigen, um eine adäquate Insulinsekretion aufrechtzuerhalten.

In der longitudinalen Analyse waren bei Probanden mit gestörter Glukosetoleranz erhöhte freie Fettsäuren negativ mit der Insulinsekretion assoziiert. Daraus kann man die Forderung ableiten, dass gerade Patienten mit IGT und erhöhten freien Fettsäuren mit einer (medikamentösen) präventiven Therapie behandelt werden sollten, die auf die Senkung der freien Fettsäuren abzielt.

Die Tatsache, dass in der Gruppe mit eingeschränkter Glukosetoleranz (IGT) ein erhöhter Spiegel nüchtern freier Fettsäuren zu Beginn der Untersuchungen die Verschlechterung der Insulinsekretion voraussagte, lässt darauf schließen, dass erhöhte freie Fettsäuren im Nüchternzustand erst bei eingeschränkter Glukosetoleranz schädlich für die Insulinsekretion sind. Beim Zusammentreffen von IGT und erhöhten nüchtern freien Fettsäuren besteht daher Behandlungsbedarf (siehe Schaubild 4.1).

Hierbei gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten: Man könnte einerseits frühzeitig die eingeschränkte Glukosetoleranz behandeln, indem man die erste Phase der Insulinsekretion unterstützt. Andererseits kann auch eine Verminderung der Lipotoxizität durch Senkung der freien Fettsäuren angestrebt werden. Durch die Senkung der nüchtern freien Fettsäuren wird sowohl die durch freie Fettsäuren verursachte Insulinsekretionsstörung als auch die von ihnen hervorgerufene Insulinresistenz positiv beeinflusst.

4.4.1. Behandlungs- und Präventionsmöglichkeiten bei IGT und erhöhten nüchtern freien Fettsäuren

4.4.1.1. Lebensstilintervention

Wie bereits oben beschrieben konnte die Lebensstilintervention bei Probanden mit eingeschränkter Glukosetoleranz und erhöhten nüchtern freien Fettsäuren weder den Fettsäurespiegel signifikant verringern, noch die erste Phase der glukose-induzierten Insulinsekretion wiederherstellen. Durch die Gewichtsreduktion war jedoch eine Verbesserung der Insulinsensitivität durchaus möglich, so dass auch bei eingeschränkter Sekretionskapazität das Erreichen einer normalen Glukosetoleranz realisierbar ist. Daher ist die Lebensstilintervention zur Verminderung der Glukosetoxizität, nicht aber zu einer Reduktion der Lipotoxizität durch freie Fettsäuren geeignet.

4.4.1.2. Kurzzeitige Insulintherapie

Eine kurzzeitige Insulintherapie, wie sie auch manchmal zu Beginn der Therapie eines Typ 2 Diabetes mellitus durchgeführt wird, kann die β -Zellen entlasten und zu einer temporären Remission der Inselzellen mit Verbesserung der ersten Phase der Insulinsekretion führen.¹²⁴ Durch die Senkung der postprandialen Blutglukosespiegel wird einer Gluko- und Lipotoxizität durch die eingeschränkte Glukosetoleranz vorgebeugt, wodurch die Remission zu erklären ist. Zusätzlich zum Glukosespiegel wurden die freien Fettsäuren durch eine einjährige intensivierete Insulintherapie bei neudiagnostiziertem Typ 2 Diabetes mellitus nachweislich gesenkt.¹²⁵

Da die meisten Diabetes-Patienten in einer ähnlichen Studie einige Wochen oder Monate nach einer erfolgten 2-wöchigen Insulintherapie erneut erhöhte Blutglukosewerte aufwiesen¹²⁶, ist mit einem Wiederauftreten der eingeschränkten Glukosetoleranz und dadurch mit einem Fortbestehen von Gluko- und Lipotoxizität zu rechnen. Weiterhin besteht bei Insulintherapie ein erhöhtes Hypoglykämierisiko und eine Neigung zur Gewichtszunahme, welche

4. Diskussion

insbesondere im Rahmen des metabolischen Syndroms in der Regel unerwünscht ist. Derzeit werden prospektive randomisierte Studien (z.B. ORIGIN-Studie) durchgeführt, die bei IGT-Patienten den Vorteil einer frühzeitigen Insulintherapie prüfen. Die Ergebnisse hierzu müssen abgewartet werden.

4.4.1.3. Biguanide

Metformin® hemmt die Glukose-Neubildung der Leber und die Glukoseresorption im Darm und bewirkt eine schnellere Aufnahme von Glukose in die Muskelzellen. Bei in vitro Studien an menschlichen β -Zellen verhinderte Metformin® in Gegenwart von erhöhten Spiegeln freier Fettsäuren eine Verschlechterung der glukose-induzierten ersten Phase der Insulinsekretion.¹²⁷ Daher kann ein protektiver Effekt vor Glukolipotoxizität zwar angenommen werden, jedoch stehen klinische Studien hierzu noch aus. Weiterhin muss hinterfragt werden, ob das Risiko einer Laktatazidose bei Metformin®-Einnahme nicht zu hoch ist, um es bereits zur Diabetesprävention einzusetzen.

4.4.1.4. PPARgamma-Rezeptoragonisten (Glitazone)

Glitazone sind PPARgamma-Rezeptoragonisten, welche beim Menschen zu einer Umverteilung des Körperfetts zugunsten des subkutanen Fettgewebes und zur Verminderung der Insulinsresistenz führen.^{44,128} Sie verbessern den antilipolytischen Effekt des Insulins und die β -Zellfunktion¹²⁹ und senken dadurch den Spiegel von Triglyceriden und freien Fettsäuren.¹³⁰ Bei in vitro Versuchen an isolierten β -Zellen von ZDF-Ratten konnte durch Zugabe von Troglitazon der Triglyceridgehalt der β -Zellen auf die Hälfte gesenkt werden während die Glukose-induzierte Insulinsekretion auf mehr als das 30-fache anstieg.¹³¹ Bei in vitro Untersuchungen an menschlichen Inselzellen verbesserte die Zugabe von PPARgamma-Rezeptoragonisten ebenfalls die glukose-induzierte erste Phase der Insulinsekretion in Gegenwart von erhöhten freien Fettsäuren.¹³² Auch klinischen Studien zu Folge sind PPARgamma-

4. Diskussion

Rezeptoragonisten in der Lage, bei Menschen mit eingeschränkter Glukosetoleranz¹³³ oder manifestem Diabetes mellitus^{134,135} den nüchternen und postprandialen Blutglukosespiegel zu senken und die erste Phase der Insulinsekretion zu verbessern.

Folglich sind Glitazone in der Lage sowohl Gluko- als auch Lipotoxizität zu vermindern. In einer dreijährigen Studie wurden Glitazone auch erfolgreich zu Diabetesprävention bei Hochrisiko-Probanden mit IGT und Insulinresistenz (IR) eingesetzt. Das Diabetesinzidenzrisiko sank im Vergleich zu Kontrollgruppe um 88,9%.¹³⁶ Jedoch treten unter Glitazontherapie Ödemneigung sowie hepatotoxische Wirkungen auf, weshalb auch hier die Nutzen-Risikoabwägung gegen deren routinemäßigen Einsatz zur Diabetesprävention bei erhöhten nüchtern freien Fettsäuren und eingeschränkten Glukosetoleranz spricht.

4.4.1.5. GLP-1-Rezeptoragonisten (Inkretinanaloga)

Glucagon-like-peptide (GLP) wird von enteroendokrinen Zellen des Duodenums, des distalen Ileums und des Colons sezerniert. Glucagon-like-peptide-(GLP)-1-Rezeptoragonisten wie Exenatide® aktivieren ebenso wie die körpereigenen Botenstoffe G-Proteine, die auch auf den β -Zellen lokalisiert sind. Sie vermindern dadurch die Glukagonsekretion sowie die hepatische Glukoseausschüttung und verlängern die Magenentleerung. Weiterhin stimulieren sie ausschließlich bei erhöhten Glukosespiegeln die postprandiale glukose-induzierte Insulinsekretion.¹³⁷ In einem klinischen Versuch mit intravenöser Gabe von GLP-1-Agonisten verbesserte sich die erste Phase der Insulinsekretion bei Diabetes-Patienten und normal glukosetoleranten Probanden nach einer Anwendung von über 3 Stunden signifikant.¹³⁸ In präklinischen Studien zeigten GLP-1-Rezeptoragonisten auch proliferative Effekte auf Inselzellen und vor Apoptose schützende Effekte auf Inselzellen.¹³⁹ GLP-1-Agonisten können daher als potentes Mittel zur Verbesserung der Glukose-induzierten ersten Phase der Insulinsekretion angesehen werden und haben vermutlich vor Apoptose durch Glukotoxizität schützende Eigenschaften.¹⁴⁰

4. Diskussion

4.4.1.6. Nikotinsäurederivate

Unter den Lipidsenkern ist Nikotinsäure das einzige Medikament, welches die Triglyceridsynthese und den Spiegel freier Fettsäuren durch Hemmung der Lipolyse senkt.¹⁴¹ Außerdem wird auch der LDL-Cholesterinspiegel verringert, wodurch das Arterioskleroserisiko sinkt. Erst vor kurzem wurde ein G-Protein gekoppelter Rezeptor GPR109A gefunden, über den Nikotinsäure ihre Wirkung entfaltet. Der exakte Wirkmechanismus ist jedoch noch nicht bekannt.¹⁴²

Es gibt bereits an erstgradig Verwandten von Typ 2 Diabetes-Patienten Kurzzeitstudien zwischen 48 Stunden und einer Woche, bei denen durch die Gabe von Nikotinsäure sowohl die Spiegel freier Fettsäuren gesenkt als auch die erste Phase der Insulinsekretion verbessert werden konnte.^{73,104}

Zu den wichtigsten Nebenwirkungen von Nikotinsäure gehören Flush, eine Verschlechterung der Glukosetoleranz und ein Harnsäureanstieg, was besonders bei Behandlung von Patienten mit dem Metabolischen Syndrom beachtet werden muss.

4.4.2. Schlussfolgerung und Ausblick

Die genannten günstigen Effekte auf die Glukotoxizität von oralen Antidiabetika wie Biguaniden, Glitazonen und Inkretinanaloga werden von manchen Autoren relativiert, da hiermit eine vollständige Wiederherstellung der ersten Phase der Insulinsekretion nicht mehr zu erreichen sei.¹⁴³ Weiterhin bergen die meisten erwähnten Medikamente ein nicht unerhebliches Nebenwirkungsprofil und beeinflussen nur untergeordnet die freien Fettsäuren und die Lipotoxizität als Ursache der Sekretionsstörung. In Anbetracht der Ergebnisse unserer Studie wäre die Senkung der freien Fettsäuren zur Prävention einer Verschlechterung der ersten Phase der Insulinsekretion sicher angebracht. Daher scheint die Suche nach einer kausalen fettsäuresenkenden Therapie notwendig, um ein Fortschreiten der β -Zellschädigung bei bereits eingetretener eingeschränkter Glukosetoleranz (IGT) zu verhindern.

Da die Lipotoxizität durch orale Antidiabetika nur unzureichend verringert werden kann, wären in Zukunft Fettsäure-senkende Substanzen wie zum Beispiel Nikotinsäure als Präventionsmedikament bei erhöhten nüchtern freien Fettsäuren und eingeschränkter Glukosetoleranz in Erwägung zu ziehen.

5. Zusammenfassung

Zu den pathophysiologischen Grundlagen des Diabetes mellitus Typ 2 gehören die Insulinresistenz und die gestörte Insulinsekretion. Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob der Spiegel der freien Fettsäuren im Nüchternplasma bei Risikopersonen für Diabetes mellitus Typ 2 die Insulinsekretion beeinträchtigt. Hierfür untersuchten wir in einer Querschnittsuntersuchung 1055 Probanden mit positiver Familienanamnese für Typ 2 Diabetes mellitus. Unabhängig von Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und prozentualem Fettgehalt des Körpers fanden wir in unserer multivariaten linearen Regressionsanalyse eine statistisch signifikante negative Korrelation ($p < 0,0001$) der Konzentration nüchtern freier Fettsäuren mit der ersten Phase der Insulinsekretion. Dieser Befund bestätigt Hinweise aus früheren Studien.

Aus bisher durchgeführten Studien ging jedoch nicht hervor, ob ein erhöhter Nüchternspiegel freier Fettsäuren die Entwicklung der ersten Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion beeinflusst oder voraussagen kann. Außerdem war bisher unklar inwiefern der Nüchternspiegel der freien Fettsäuren und die Änderung der ersten Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion durch eine Lebensstiländerung beeinflusst werden können.

Zu diesem Zweck untersuchten wir bei 105 Probanden mit positiver Familienanamnese für Typ 2 Diabetes mellitus den Nüchternspiegel freier Fettsäuren und im Rahmen eines oralen Glukosetoleranztests die erste Phase der Insulinsekretion vor und nach einer 9-monatigen Lebensstilintervention. Außerdem wurden anthropometrische und metabolische Parameter erhoben, welche nach der erfolgten Lebensstilintervention mit den Ausgangswerten verglichen wurden.

Nach der Lebensstilintervention hatte der BMI der Probanden im Vergleich zur Erstuntersuchung im Mittel signifikant abgenommen ($p < 0,0001$), wobei auch der prozentuale Körperfettanteil gesunken war ($p = 0,0073$).

Die freien Fettsäuren ($p = 0,44$) blieben ebenso wie die erste Phase der Glukose-induzierten Insulinsekretion ($p = 0,53$) nahezu unverändert. Die

5. Zusammenfassung

Insulinsensitivität und die Insulinsekretion relativ zur Insulinsensitivität (Disposition-Index) nahm signifikant zu ($p= 0,0005$). Sowohl der Nüchternplasmaglukosespiegel ($p= 0,046$) als auch die postprandiale Plasmaglukose ($p<0,0001$) wurden im Zeitraum der Lebensstilintervention signifikant vermindert, wobei die Verbesserung bei der postprandialen Plasmaglukose deutlicher war.

In einer linearen multivariaten Regressionsanalyse sagte der Nüchternspiegel freier Fettsäuren unabhängig von der Änderung des Körperfettanteils und der Insulinsensitivität in der Gesamtgruppe der 105 Probanden nichts über die Entwicklung der ersten Phase der Insulinsekretion bis zur Folgeuntersuchung nach der Lebensstilintervention aus. Bei Personen mit eingeschränkter Glukosetoleranz (IGT) jedoch war der Nüchternspiegel freier Fettsäuren unabhängig von der Änderung des Körperfettanteils und der Insulinsensitivität ein Prädiktor für die Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion ($p=0,0149$).

Das bedeutet, dass bei Personen mit IGT ein erhöhter Nüchternspiegel freier Fettsäuren eine Verschlechterung der ersten Phase der Insulinsekretion voraussagt, welche auch durch eine Lebensstilintervention nicht zu beeinflussen ist. Scheinbar sind β -Zellen bei eingeschränkter Glukosetoleranz gegenüber erhöhten freien Fettsäuren vulnerabler als beim Gesunden. Bisher wurde bei Feststellung einer eingeschränkten Glukosetoleranz ausschließlich der Blutglukosespiegel therapiert. Künftig könnten Risikopatienten mit erhöhtem Nüchternspiegel freier Fettsäuren und IGT präventiv mit Lipidsenkern wie Nikotinsäure behandelt werden, um die Lipotoxizität auf pankreatische β -Zellen zu verringern.

6. Anhang

6.1. Literaturverzeichnis

- 1) Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H; (2004)
Global Prevalence of Diabetes; Diabetes Care, 27(5):1047-1053
- 2) Kerner W; (2005) „**Wird Diabetes zur Volksseuche?**“,
40. Jahrestagung der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG)
- 3) Mehnert H, Standl E, Usadel KH, Häring HU, 5. Auflage (2003)
Diabetologie in Klinik und Praxis,
Georg Thieme Verlag Stuttgart New York; S. 407-437
- 4) Köster I, von Ferber L, Hauner H; (Pressekonferenz 28. Juli 2005)
Die Kosten des Diabetes Mellitus - Ergebnisse der KoDiM-Studie;
PMV- Forschungsgruppe Universität Köln
- 5) Laaksonen DE, Niskanen L, Lakka HM, Lakka TA, Uusitupa M; (2004)
Epidemiology and treatment of the metabolic syndrome;
Ann Med.;36(5):332-46
- 6) Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; (2001) **Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance**; N Engl J Med.; 344(18):1343-50
- 7) Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM; Diabetes Prevention Program Research Group, (2002) **Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin**, N Engl J Med.; 346(6):393-403
- 8) The DECODE study group; (1999) **Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetes Association diagnostic criteria**. The DECODE study group, European Diabetes Epidemiology Group. Diabetes Epidemiology: Collaborative analysis Of Diagnostic criteria in Europe; Lancet; 354(9179):617-21
- 9) Alberti KG, Zimmet P, Shaw J, IDF Epidemiology Task Force Consensus Group; (2005) **The metabolic syndrome --a new worldwide definition**;
Lancet; 366(9491):1059-62
- 10) Reaven GM; (2002) **Multiple CHD risk factors in type 2 diabetes: beyond hyperglycaemia**. Diabetes Obes Metab; 4(s1):13-18
- 11) Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH; (1999)
The disease burden associated with overweight and obesity

- JAMA; 282(16):1523-9
- 12) Kahn SE, Prigeon RL, Schwartz RS, Fujimoto WY, Knopp RH, Brunzell JD, Porte D, (2001) **Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and Islet beta-cell function as explanations for metabolic diversity**, J Nutr.;131:354S-60S
 - 13) Mehnert H, Standl E, Usadel KH, Häring HU, 5. Auflage (2003) **Diabetologie in Klinik und Praxis**, Georg Thieme Verlag Stuttgart New York; S. 73
 - 14) Saad M, Knowler WC, Pettitt DJ, Nelson RG, Mott DM, Bennett PH; (1988) **The natural history of impaired glucose tolerance in the Pima Indians**. N Engl J Med; 319:1500–1509
 - 15) Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M; (1997) **Characterization of the prediabetic state**. Am J Hypertens; 10:172S-180S
 - 16) Busch CP, Hegele RA; (2001) **Genetic determinants of type 2 diabetes mellitus**; Clinical genetics; 60(4):243-54
 - 17) Almind K, Doria A, Kahn CR; (2001) **Putting the genes for type II diabetes on the map**; Nat Med;7(3):277-9
 - 18) Saltiel AR, Kahn CR, (2001) **Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism**, Nature; 414(6865):799-806
 - 19) Wallace TM, Matthews DR; (2002) **The assessment of insulin resistance in man**. Diabet Med; 19(7):527-34
 - 20) Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, Knowler WC, Bennett PH, Bogardus C; (1993) **Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Prospective studies of Pima Indians**; N Engl J Med.; 329(27):1988-92
 - 21) Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR; (1992) **Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study**; Joslin Diabetes Center, Department of Epidemiology, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts; Lancet; 340(8825):925-9
 - 22) Mehnert H, Standl E, Usadel KH, Häring HU, 5. Auflage (2003) **Diabetologie in Klinik und Praxis**; Georg Thieme Verlag Stuttgart New York; S. 72

- 23) Carey DG, Jenkins AB, Campbell LV, Freund J, Chisholm DJ; (1996) **Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women: Direct measurements reveal a strong relationship in subjects at both low and high risk of NIDDM;** Diabetes; 45(5): 633-638
- 24) Boden G, (1997) **Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM,** Diabetes; 46(1):3-10
- 25) Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Roden M, Shulman GI; (1999) **Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ¹H NMR spectroscopy study;** Diabetologia; 42(1):113-6
- 26) Fasshauer M; Klein J; Blüher M; Paschke R; (2004) **Adipokine: Mögliches Bindeglied zwischen Insulinresistenz und Adipositas;** Deutsches Ärzteblatt; 101: 3491–3495
- 27) Mehnert H, Standl E, Usadel KH, Häring HU, 5. Auflage (2003) **Diabetologie in Klinik und Praxis,** Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, S. 68
- 28) Sicree RA, Zimmet PZ, King HOM, Coventry JS; (1987) **Plasma insulin among Nauruans: prediction of deterioration in glucose tolerance over 6 years;** Diabetes; 36:179–186
- 29) Haffner SM, Stern MP, Mitchell BD, Hazuda HP, Patterson JK, (1990) **Incidence of type II diabetes in Mexican Americans predicted by fasting insulin and glucose levels, obesity, and body-fat distribution;** Diabetes; 39:283–2
- 30) Grodsky G, Batts A, Bennett L, Vcella C, McWilliams N, Smith D, (1963) **Effects of carbohydrates on secretion of insulin from isolated rat pancreas,** Am J Physiol; 205:638-644
- 31) Löffler G, Petrides PE, 6. Auflage (1998), **Biochemie & Pathobiochemie;** Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio; S. 788-793
- 32) Porte D, Pupo AA; (1969) **Insulin responses to glucose: evidence for a two pool system in man;** J Clin Invest; 48(12): 2309–2319
- 33) Larsson H, Ahrén B, (1998) **Glucose-dependent arginine stimulation test for characterization of islet function: studies on reproducibility and priming effect of arginine,** Diabetologia;; 4:772-7

6. Anhang

- 34) Boden G, Chen X, Rosner J, Barton M, (1995) **Effects of a 48-h fat infusion on insulin secretion and glucose utilization;** Diabetes; 44(10):1239-42
- 35) Efendic S, Grill V, Luft R, Wajngot A; (1988) **Low insulin response: a marker of pre-diabetes.** Adv Exp Med Biol; 246:167–174
- 36) Byrne MM, Sturis J, Sobel RJ, Polonsky KS, (1996) **Elevated plasma glucose 2 h postchallenge predicts defects in beta-cell function,** Am J Physiol.; 270(4 Pt 1):E572-9
- 37) Yoneda H, Ikegami H, Yamamoto Y, Yamato E, Cha T, Kawaguchi Y, Tahara Y, Ogihara T; (1992) **Analysis of early-phase insulin responses in nonobese subjects with mild glucose intolerance;** Diabetes Care; 15(11):1517-21
- 38) Leahy JL; (1990) **Natural history of beta-cell dysfunction in NIDDM;** Diabetes Care;13(9):992-1010
- 39) Porte D, (1991) **Banting lecture 1990. Beta-cells in type II diabetes mellitus,** Diabetes; 40:166-80
- 40) Pratley RE, Weyer C; (2001) **The role of impaired early insulin secretion in the pathogenesis of Type II diabetes mellitus;** Diabetologia; 44(8):929-945
- 41) Matthews DR, Cull CA, Stratton IM, Holman RR, Turner RC; (1998) **UKPDS 26: sulphonylurea failure in non-insulin-dependent diabetic patients over six years. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group;** Diabetes Med; 15: 297–303
- 42) Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE, (1999) **The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus,** J Clin Invest; 104(6):787-94
- 43) Consoli A, Nurjhan N, Capani F, Gerich J, (1989) **Predominant role of gluconeogenesis in increased hepatic glucose production in NIDDM,** Diabetes; 38(5):550-7
- 44) DeFronzo RA, (2004) **Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes,** Int J Clin Pract Suppl.;(143):9-21
- 45) Massillon D, Barzilai N, Hawkins M, Prus-Wertheimer D, Rossetti L; (1997) **Induction of hepatic glucose-6-phosphatase gene expression by lipid infusion;** Diabetes; 46:153–157
- 46) Cline GW, Petersen KF, Krssak M, Shen J, Hundal RS, Trajanoski Z, Inzucchi S, Dresner A, Rothman DL, Shulan GI; (1999)

- Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes.**
N Engl J Med 341:240–246
- 47) Baron AD; (1994) **Hemodynamic actions of insulin,**
Am J Physiol; 267(2 Pt 1):E187-202
- 48) Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, Crowder K, Cronin J, Baron AD;
(2000) **Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated
vasodilation and nitric oxide production;** Diabetes; 49(7):1231-8
- 49) Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW,
Shulman GI; (1996) **Mechanism of free fatty acid-induced insulin
resistance in humans;** J Clin Invest; 97:2859–2865
- 50) Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, Maerker E,
Matthaei S, Schick F, Claussen C-D, Häring H-U; (1999)
**Association of increased intramyocellular lipid content with insulin
resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects;**
Diabetes; 48:1113–1119
- 51) Consoli A; (1992) **Role of liver in pathophysiology of NIDDM,**
Diabetes Care;15(3):430-41
- 52) Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H; (2003)
**Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone
bad, and the glutathione connection,** Diabetes.; 52(3):581-7
- 53) Löffler G, Petrides PE, 6. Auflage (1998);
Biochemie & Pathobiochemie, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New
York, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio, S. 425-480
- 54) Paolisso G, Tataranni PA, Foley JE, Bogardus C, Howard BV, Ravussin
E, (1995) **A high concentration of fasting plasma non-esterified fatty
acids is a risk factor for the development of NIDDM,**
Diabetologia; 38(10):1213-7
- 55) Charles MA, Eschwège E, Thibault N, Claude JR, Warnet JM, Rosselin
GE, Girard J, Balkau B, (1997) **The role of non-esterified fatty acids in
the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects:
results of the Paris Prospective Study,** Diabetologia; 40(9):1101-6
- 56) Pan DA, Lillioja S, Kriketos AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C,
Jenkins, AB, Storlein LH; (1997) **Skeletal muscle triglyceride levels
are inversely related to insulin action.** Diabetes 46:983–988
- 57) McGarry JD; (2002) **Banting Lecture 2001 Dysregulation of Fatty Acid
Metabolism in the Etiology of Type 2 Diabetes;** Diabetes; 51(1):7-18

- 58) Reaven GM; (1988) **Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease**, Diabetes; 37(12):1595-607
- 59) Boden G, Chen X, Iqbal N; (1998) **Acute lowering of plasma fatty acids lowers basal insulin secretion in diabetic and nondiabetic subjects**; Diabetes; 47(10):1609-12
- 60) Dobbins RL, Chester MW, Daniels MB, McGarry JD, Stein DT; (1998) **Circulating fatty acids are essential for efficient glucose-stimulated Insulin secretion after prolonged fasting in humans.** Diabetes 47:1613–1618
- 61) Stein DT, Esser V, Stevenson BE, Lane KE, Whiteside JH, Daniels MB, Chen S, McGarry JD; (1996) **Essentiality of circulating fatty acids for glucose-stimulated insulin secretion in the fasted rat**; J Clin Invest; 97: 2728–2735
- 62) Carpentier A, Mittelman SD, Lamarche B, Bergman RN, Giacca A, Lewis GF, (1999) **Acute enhancement of insulin secretion by FFA in humans is lost with prolonged FFA elevation**, Am J Physiol.; 276(6 Pt 1):E1055-66
- 63) Paolisso G, Gambardella A, Amato L, Tortoriello R, D'Amore A, Varricchio M, D'Onofrio F; (1995) **Opposite effects of short- and long-term fatty acid infusion on insulin secretion in healthy subjects**; Diabetologia; 38(11): 1295-9
- 64) McGarry JD, Dobbins RL; (1999) **Fatty acids, lipotoxicity and insulin secretion.** Diabetologia; 42:128–138
- 65) Yaney GC, Corkey BE, (2003) **Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells**, Diabetologia; 46(10):1297-312
- 66) Metz SA, (1988) **Exogenous arachidonic acid promotes insulin release from intact or permeabilized rat islets by dual mechanisms. Putative activation of Ca²⁺ mobilization and protein kinase C**, Diabetes; 37, 11 1453-1469
- 67) Stein DT, Stevenson BE, Chester MW, Basit M, Daniels MB, Turley SD, and McGarry JD; (1997) **The insulinotropic potency of fatty acids is influenced profoundly by their chain length and degree of saturation**, J Clin Invest.; 100: 398–4
- 68) Kashyap S, Belfort R, Gastaldelli A, Pratipanawatr T, Berria R, Pratipanawatr W, Bajaj M, Mandarino L, DeFronzo R, Cusi K, (2003) **A Sustained Increase in Plasma Free Fatty Acids Impairs Insulin Secretion in Nondiabetic Subjects Genetically Predisposed to Develop Type 2 Diabetes**; Diabetes; 52:2461-2474

- 69) Stefan N, Stumvoll M, Bogardus C, Tataranni PA, (2003) **Elevated plasma nonesterified fatty acids are associated with deterioration of acute insulin response in IGT but not NGT**, Am J Physiol Endocrinol Metab.; 284(6):E1156-61
- 70) Storgaard H, Jensen CB, Vaag AA, Vølund A, Madsbad S, (2003) **Insulin secretion after short- and long-term low-grade free fatty acid infusion in men with increased risk of developing type 2 diabetes**, Metabolism; 52(7):885-94
- 71) Leung N, Sakaue T, Carpentier A, Uffelman K, Giacca A, Lewis GF; (2004) **Prolonged increase of plasma non-esterified fatty acids fully abolishes the stimulatory effect of 24 hours of moderate hyperglycaemia on insulin sensitivity and pancreatic beta-cell function in obese men**, Diabetologia; 47(2):204-13
- 72) Carpentier A, Giacca A, Lewis GF; (2001) **Effect of increased plasma non-esterified fatty acids (NEFAs) on arginine-stimulated insulin secretion in obese humans**, Diabetologia; 44(11):1989-97
- 73) Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Gualdiero P, Saccomanno F, Gambardella A, Giugliano D, D'Onofrio F, Howard BV; (1998) **Lowering fatty acids potentiates acute insulin response in first degree relatives of people with type II diabetes**, Diabetologia.;41(10):1127-32
- 74) Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA; (1963) **The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus**; Lancet; 1:785-9
- 75) Zhou YP, Grill VE; (1995) **Palmitate-induced beta-cell insensitivity to glucose is coupled to decreased pyruvate dehydrogenase activity and enhanced kinase activity in rat pancreatic islets**, Diabetes; 44(4):394-9
- 76) Randle PJ, Priestman DA, Mistry S and Halsall A; (1994) **Mechanisms modifying glucose oxidation in diabetes mellitus**, Diabetologia, Vol. 37, Supplement 2 , S155-S161
- 77) Zhou YP, Grill VE; (1995) **Long term exposure to fatty acids and ketones inhibits β -cell function in human pancreatic islets of Langerhans**. J Clin Endocrinol Metab 80:1584–1590
- 78) Sako Y, Grill VE; (1990) **A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B cell oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation**, Endocrinology; 127:1580-9

- 79) Purrello F, Rabuazzo AM; (2000) **Metabolic factors that affect beta-cell function and survival**, Diabetes Nutr Metab; 13(2):84-91
- 80) Prentki M, Corkey BE; (1996) **Are the beta-cell signaling molecules malonyl-CoA and cystolic long-chain acyl-CoA implicated in multiple tissue defects of obesity and NIDDM?** Diabetes;45(3):273-83
- 81) Prentki M, Vischer S, Glennon MC, Regazzi R, Deeney JT, Corkey BE; (1992) **Malonyl-CoA and long chain acyl-CoA esters as metabolic coupling factors in nutrient-induced insulin secretion**, J Biol Chem., 25;267(9):5802-10
- 82) Larsson O, Deeney JT, Bränström R, Berggren PO, Corkey BE; (1996) **Activation of the ATP-sensitive K⁺ channel by long chain acyl-CoA. A role in modulation of pancreatic beta-cell glucose sensitivity**, J Biol Chem., 3;271(18):10623-6
- 83) Corkey BE, Deeney JT, Yaney GC, Tornheim K, Prentki M; (2000) **The role of long-chain fatty acyl-CoA esters in beta-cell signal transduction**, J Nutr; 130(2S Suppl):299S-304S
- 84) Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC; (2003) **β-Cell Deficit and Increased β-Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes**, Diabetes; 52:102-110
- 85) Pick A, Clark J, Kubstrup C, Levisetti M, Pugh W, Bonner-Weir S, Polonsky KS; (1998) **Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat**, Diabetes.; 47(3):358-64
- 86) Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, Unger RH; (1998) **Fatty acid-induced β-cell apoptosis: a link between obesity and diabetes**. Proc Natl Acad Sci U S A 95:2498–2502
- 87) Girard J; (2003) **Contribution of free fatty acids to impairment of insulin secretion and action: mechanism of beta-cell lipotoxicity**, Med Sci (Paris); 19(8-9):827-33
- 88) Obeid LM, Linardic CM, Karolak LA, Hannun YA, (1993) **Programmed cell death induced by ceramide**, Science. 259(5102):1769-71
- 89) Yoshikawa H, Tajiri Y, Sako Y, Hashimoto T, Umeda F, Nawata H; (2001) **Effects of free fatty acids on β-cell functions: A possible involvement of peroxisome proliferator-activated receptors α or pancreatic/duodenal homeobox**; Metabolism; 50(5):613-8

6. Anhang

- 90) Lameloise N, Muzzin P, Prentki M, Assimacopoulos-Jeannet F; (2001) **Uncoupling protein 2: a possible link between fatty acid excess and impaired glucose-induced insulin secretion?**, Diabetes; 50(4):803-9
- 91) Carlsson C, Borg LA, Welsh N, (1999) **Sodium palmitate induces partial mitochondrial uncoupling and reactive oxygen species in rat pancreatic islets in vitro**, Endocrinology; 140(8):3422-8
- 92) Maedler K, Oberholzer J, Bucher P, Spinas GA, Donath MY; (2003) **Monounsaturated fatty acids prevent the deleterious effects of palmitate and high glucose on human pancreatic beta-cell turnover and function**, Diabetes.; 52(3):726-33
- 93) Eitel K, Staiger H, Brendel MD, Brandhorst H, Bretzel RG, Häring HU, Kellerer M; (2003) **Apoptosis induced by free fatty acids**, Med Klin (Munich).; 98(5):248-52
- 94) Alberti KG, Zimmet PZ; (1998) **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation**; Diabet Med; 15(7):539-53
- 95) Renz-Polster H, Braun, J; 2. Auflage (2001) **Basislehrbuch Innere Medizin**, Urban & Fischer Verlag München Jena, S.770 ff.
- 96) World Health Organization; (2000) **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Report of a WHO consultation on obesity. WHO Techn Rep Series 894:i-xii, 1-253
- 97) Lindsay RS, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J; (2002) **Adiponectin and development of type 2 diabetes in the Pima Indian population**; Lancet; 360(9326):57-8
- 98) Löffler G, Petrides PE, 6. Auflage (1998), **Biochemie und Pathobiochemie**, Springer- Verlag Berlin Heidelberg New York, S.91 ff., 767 ff.
- 99) Matsuda M, DeFronzo RA; (1999) **Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp**; Diabetes Care; 22(9):1462-70
- 100) Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haefen T, Renn W, Gerich J; (2000) **Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity**; Diabetes Care; 23(3):295-301

6. Anhang

- 101) Bergman RN, Lilly lecture; (1989) **Toward physiological understanding of glucose tolerance. Minimal-model approach**, Diabetes; 38(12):1512-27
- 102) Pankow JS, Duncan BB, Schmidt MI, Ballantyne CM, Couper DJ, Hoogeveen RC, Golden SH; (2004) **Atherosclerosis Risk in Communities Study, Fasting plasma free fatty acids and risk of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study**, Diabetes Care; 27(1):77-82
- 103) Elks ML; (1993) **Chronic perfusion of rat islets with palmitate suppresses glucose-stimulated insulin release**, Endocrinology; 133(1):208-14
- 104) Cusi K, Kashyap S, Gastaldelli A, Bajaj M, Cersosimo E; (2007) **Effects on insulin secretion and insulin action of a 48-h reduction of plasma free fatty acids with acipimox in nondiabetic subjects genetically predisposed to type 2 diabetes;** Am J Physiol Endocrinol Metab; 292(6):E1775-81
- 105) Laakso M; (2005) **Prevention of type 2 diabetes**, Curr Mol Med; 5(3):365-74
- 106) Scheen AJ, Letiexhe MR, Ernest P; (2003) **Prevention of type 2 diabetes: lifestyle changes or pharmacological interventions?** Rev Med Liege, 58(4):206-10
- 107) Fujimoto WY, Jablonski KA, Bray GA, Kriska A, Barrett-Connor E, Haffner S, Hanson R, Hill JO, Hubbard V, Stamm E, Pi-Sunyer FX; Diabetes Prevention Program Research Group; (2007) **Body size and shape changes and the risk of diabetes in the diabetes prevention program**, Diabetes; 56(6):1680-5
- 108) Lindström J, Louheranta A, Mannelin M, Rastas M, Salminen V, Eriksson J, Uusitupa M, Tuomilehto J; Finnish Diabetes Prevention Study Group, (2003) **The Finnish Diabetes Prevention Study (DPS): Lifestyle intervention and 3-year results on diet and physical activity**, Diabetes Care; 26(12):3230-6
- 109) Villareal DT, Miller BV 3rd, Banks M, Fontana L, Sinacore DR, Klein S; (2006) **Effect of lifestyle intervention on metabolic coronary heart disease risk factors in obese older adults**, Am J Clin Nutr; 84(6):1317-23
- 110) Diabetes Prevention Program Research Group, Crandall J, Schade D, Ma Y, Fujimoto WY, Barrett-Connor E, Fowler S, Dagogo-Jack S, Andres R; (2006) **The influence of age on the effects of lifestyle modification and metformin in prevention of diabetes**,

J Gerontol A Biol Sci Med Sci; 61(10):1075-81

- 111) Yoshida Y, Hashimoto N, Tokuyama Y, Kitagawa H, Takahashi K, Yagui K, Kanatsuka A, Bujo H, Higurashi M, Miyazawa S, Yoshida S, Saito Y; (2004) **Effects of weight loss in obese subjects with normal fasting plasma glucose or impaired glucose tolerance on insulin release and insulin resistance according to a minimal model analysis**, Metabolism; 53(9):1095-100
- 112) Kitabchi AE, Tempresa M, Knowler WC, Kahn SE, Fowler SE, Haffner SM, Andres R, Saudek C, Edelstein SL, Arakaki R, Murphy MB, Shamoan H; The Diabetes Prevention Program Research Group; (2005) **Role of insulin secretion and sensitivity in the evolution of type 2 diabetes in the diabetes prevention program: effects of lifestyle intervention and metformin**, Diabetes; 54(8):2404-14
- 113) Utzschneider KM, Carr DB, Barsness SM, Kahn SE, Schwartz RS; (2004) **Diet-induced weight loss is associated with an improvement in beta-cell function in older men**, J Clin Endocrinol Metab; 89(6):2704-10
- 114) Mensink M, Feskens EJ, Saris WH, De Bruin TW, Blaak EE; (2003) **Study on Lifestyle Intervention and Impaired Glucose Tolerance Maastricht (SLIM): preliminary results after one year**; Int J Obes Relat Metab Disord; 27(3):377-84
- 115) Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP, Andres R, Barrett-Connor EL, Dose GK, Haffner SM, Pettitt DJ, Sorkin JD, Muller DC, Collins VR, Hamman RF; (1997) **Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: an analysis of six prospective studies**; Diabetes; 46:701 –710
- 116) Hanefeld M, Koehler C, Fuecker K, Henkel E, Schaper F, Temelkova-Kurktschiev T; Impaired Glucose Tolerance for Atherosclerosis and Diabetes study; (2003) **Insulin secretion and insulin sensitivity pattern is different in isolated impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose: the risk factor in Impaired Glucose Tolerance for Atherosclerosis and Diabetes study**; Diabetes Care; 26(3):868-74
- 117) Vaag A, Lehtovirta M, Thye-Rønn P, Groop L; European Group of Insulin Resistance; (2001) **Metabolic impact of a family history of Type 2 diabetes**. Results from a European multicentre study (EGIR); Diabet Med; 18(7):533-40
- 118) Gerich JE; (2003) **Contributions of insulin-resistance and insulin-secretory defects to the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus**, Mayo Clin Proc; 78 (4):447-56

- 119) Elbein SC, Wegner K, Kahn SE; (2000) **Reduced beta-cell compensation to the insulin resistance associated with obesity in members of caucasian familial type 2 diabetic kindreds;** Diabetes Care; 23(2):221-227
- 120) Gerich JE; (1998) **The Genetic Basis of Type 2 Diabetes Mellitus: Impaired Insulin Secretion versus Impaired Insulin Sensitivity,** Endocrine Reviews; 19(4): 491-503
- 121) Fritsche A, Madaus A, Stefan N, Tschrötter O, Maerker E, Teigeler A, Häring H, Stumvoll M; (2002) **Relationships among age, proinsulin conversion, and beta-cell function in nondiabetic humans;** Diabetes; 51 Suppl 1:S234-9
- 122) Costa A, Conget I, Gomis R; (2002) **Impaired glucose tolerance: is there a case for pharmacologic intervention?** Treat Endocrinol.; 1(4):205-10
- 123) Gerich JE; (2002) **Is Reduced First-Phase Insulin Release the Earliest Detectable Abnormality in Individuals Destined to Develop Type 2 Diabetes?** Diabetes 51:S117-S121
- 124) Wajchenberg, BL; (2007) **Beta-cell failure in diabetes and preservation by clinical treatment,** Endocr Rev; (2):187-218
- 125) Ryan EA, Imes S, Wallace C; (2004) **Short-term intensive insulin therapy in newly diagnosed type 2 diabetes;** Diabetes Care; 27(5):1028-32
- 126) Li Y, Xu W, Liao Z, Yao B, Chen X, Huang Z, Hu G, Weng J; (2004) **Induction of long-term glycemic control in newly diagnosed type 2 diabetic patients is associated with improvement of beta-cell function;** Diabetes Care; (11):2597-602
- 127) Lupi R, Del Guerra S, Fierabracci V, Marselli L, Novelli M, Patané G, Boggi U, Mosca F, Piro S, Del Prato S, Marchetti P; (2002) **Lipotoxicity in human pancreatic islets and the protective effect of metformin;** Diabetes; 51 Suppl 1:S134-7
- 128) Dubois M, Vantyghem MC, Schoonjans K, Pattou F; (2002) **[Thiazolidinediones in type 2 diabetes. Role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma)]** Ann Endocrinol (Paris); ; 63(6 Pt 1):511-23
- 129) Arner P; (2001) **Free fatty acids--do they play a central role in type 2 diabetes?,** Diabetes Obes Metab; 1:S11-9

- 130) Yki-Järvinen H; (2004) **Thiazolidinediones**, N Engl J Med; 351(11):1106-18
- 131) Shimabukuro M, Zhou YT, Lee Y, Unger RH; (1998) **Troglitazone lowers islet fat and restores beta cell function of Zucker diabetic fatty rats**, J Biol Chem; 273(6):3547-50
- 132) Lupi R, Del Guerra S, Marselli L, Bugliani M, Boggi U, Mosca F, Marchetti P, Del Prato S; (2004) **Rosiglitazone prevents the impairment of human islet function induced by fatty acids: evidence for a role of PPAR γ 2 in the modulation of insulin secretion**; Am J Physiol Endocrinol Metab; 286(4):E560-7
- 133) Cavaghan MK, Ehrmann DA, Byrne MM, Polonsky KS; (1997) **Treatment with the oral antidiabetic agent troglitazone improves beta cell responses to glucose in subjects with impaired glucose tolerance**; J Clin Invest; 100:530-537
- 134) Walter H, Lübben G; (2005) **Potential role of oral thiazolidinedione therapy in preserving beta-cell function in type 2 diabetes mellitus**; Drugs; 65(1):1-13
- 135) Ovalle F, Bell DS; (2004) **Effect of rosiglitazone versus insulin on the pancreatic beta-cell function of subjects with type 2 diabetes**; Diabetes Care; 27(11):2585-9
- 136) Durbin RJ; (2004) **Thiazolidinedione therapy in the prevention/delay of type 2 diabetes in patients with impaired glucose tolerance and insulin resistance**; Diabetes Obes Metab; 6(4):280-5
- 137) Drucker DJ; (2003) **Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes**; Diabetes Care; 26(10):2929-40
- 138) Quddusi S, Vahl TP, Hanson K, Prigeon RL, D'Alessio DA; (2003) **Differential effects of acute and extended infusions of glucagon-like peptide-1 on first- and second-phase insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans**; Diabetes Care; 26(3):791-8
- 139) Drucker DJ; (2003) **Glucagon-like peptide-1 and the islet beta-cell: augmentation of cell proliferation and inhibition of apoptosis**; Endocrinology; 144(12):5145-8
- 140) McCarty MF; (2007) **Exenatide and biotin in conjunction with a protein-sparing fast for normalization of beta cell function in type 2 diabetics**; Med Hypotheses; 69(4):928-32

6. Anhang

- 141) Karpe F, Frayn KN; (2004) **The nicotinic acid receptor--a new mechanism for an old drug**; Lancet; 363(9424):1892-4
- 142) Gille A, Bodor ET, Ahmed K, Offermanns S; (2007) **Nicotinic Acid: Pharmacological Effects and Mechanisms of Action**; Annu Rev Pharmacol Toxicol, Vol 48.113006.094746
- 143) Melissa K; Cavaghan MD; (2004) **The Beta Cell and First-Phase Insulin Secretion**; Medscape Diabetes & Endocrinology 6(2)

6.2. Abkürzungsverzeichnis

1. Phase	Erste Phase der Insulinsekretion
ACC	Acetyl-CoA Carboxylase
Acyl-CoA	Aktivierte Fettsäure
ADP	Adenosindiphosphat
AS	Aminosäuren
ATP	Adenosintriphosphat
AU	Arbitrary Units
Baseline	Erstuntersuchung
BMI	Body-Mass-Index
CIR	Corrected Insulin Response
CPT1	Carinitin-Palmitoyl-Transferase 1
DPP	Diabetes Prevention Program
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay
FFA, NEFA	Freie Fettsäuren, unveresterte Fettsäuren
follow-up	Folgeuntersuchung
FPIR	First-phase insulin response
FS	Fettsäuren
GAD-Antikörper	Glutamat-Decarboxylase-Antikörper
GLP	Glucagon-like-peptide
GS	Glykogen-Synthese
GSIS	Glukose-stimulierte Insulinsekretion
GT	Glukosetransport
H₂O₂	Wasserstoffperoxid
HDL	High Density Lipoproteine
HGP	Hepatische Glukoseproduktion
IDF	International Diabetes Federation

6. Anhang

IFG	Gestörte Nüchtern glukose
IGF-1-Rezeptor	Insulin-like Growth-Factor-1-Rezeptor
IGT	Eingeschränkte Glukosetoleranz, Impaired glucose tolerance
IL-6	Interleukin 6
IMCL	Intramyozelluläre Lipidansammlungen
IR	Insulinresistenz
ISI_{est}	Matsuda-Index, Insulinsensitivitätsindex
KHK	Koronare Herzkrankheit
LC-CoA	Langkettige aktivierte freie Fettsäure
LDL	Low Density Lipoproteine
M	Mittelwert
mRNA	Messenger-ribonuklein-Säure
NAD⁺	Nicotinamidadenindinucleotid (oxidierte Form)
NADH	Nicotinamidadenindinucleotid (reduzierte Form)
NGT	Normale Glukose Toleranz
NIDDM	Nicht insulinpflichtiger Diabetes mellitus
NO	Stickstoffmonoxid
Nü-FFS	Freie Fettsäuren im Nüchternzustand
OGTT	Oraler Glukose-Toleranz-Test
ORIGIN-Studie	Outcome Reduction with Initial Glargine Intervention – Studie
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor I
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDH	Pyruvat-Dehydrogenase
PDX-1	Pancreas duodenum homebox-1
PKC	Proteinkinase C
PPAR	Peroxisome proliferator-activated Rezeptor

6. Anhang

Range	Streuungsbreite
ROS	Reactive oxygen species
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
TG	Triacylglycerine, Triglyceride
TMB	Tetramethylbenzidine
TNF-α	Tumornekrosefaktor α
TÜF-Studie	Tübinger Familien Studie
TULIP	Tübinger Lebensstil Interventions Programm
UCP2	Uncoupling Protein 2
WHO	World Health Organization
WHR	Waist-to-Hip-Ratio
ZDF-Ratten	Zucker-Diabetes-Fett-Ratten

6.3. Tabellenverzeichnis

Tabelle 2.1:	
Labordiagnostische Äquivalente für Plasmaglukose.....	20
Tabelle 2.2:	
Klassifikation von Übergewicht und Adipositas bei Erwachsenen.....	21
Tabelle 2.3:	
Normwerte Körperfettgehalt in Abhängigkeit vom Alter & Geschlecht.....	22
Tabelle 3.1:	
Probandendaten OGTT-Querschnittsanalyse.....	32
Tabelle 3.2:	
Multivariate lineare Regressionsanalyse in der Querschnittsuntersuchung mit der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable.....	33
Tabelle 3.3:	
Probandendaten der OGTT Längsschnittanalyse (baseline).....	35
Tabelle 3.4:	
Übersicht über die Veränderung der metabolischen Parameter zwischen Erst und Folgeuntersuchung.....	41
Tabelle 3.5:	
Multivariate lineare Regressionsanalyse in der Gesamtgruppe NGT und IGT mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable...	43
Tabelle 3.6:	
Multivariate lineare Regressionsanalyse in der NGT-Gruppe mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable.....	46

Tabelle 3.7:

Multivariate lineare Regressionsanalyse in der IGT-Gruppe mit der Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion als abhängige Variable.....46

6.4. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1:

Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2.....5

Abbildung 1.2:

Pathomechanismus der freien Fettsäuren bei Diabetes mellitus Typ 2.....11

Abbildung 1.3:

Pancreatic β -cell insulin secretion indicating K-ATP-channel-dependent insulin secretion and augmentation/anaplerosis pathway.....13

Abbildung 2.1:

Bestimmung der Blutglukose nach der Glukose-Oxidase Methode.....24

Abbildung 3.1:

Nüchtern freie Fettsäuren und erste Phase der Insulinsekretion bei der Querschnittsuntersuchung adjustiert für Alter, Geschlecht, Insulinsensitivität und prozentualen Fettgehalt des Körpers.....34

Abbildung 3.2:

Veränderung des BMI.....37

Abbildung 3.3:

Veränderung des prozentualen Körperfettgehaltes.....37

Abbildung 3.4:

Veränderung der freien Fettsäuren.....38

6. Anhang

Abbildung 3.5:	
Veränderung der ersten Phase der Insulinsekretion.....	38
Abbildung 3.6:	
Veränderung des Insulinsensitivitätsindex.....	39
Abbildung 3.7:	
Veränderung des Disposition-Index.....	39
Abbildung 3.8:	
Veränderung der Nüchternplasmaglukose.....	40
Abbildung 3.9:	
Veränderung der postprandialen Plasmaglukose.....	40
Abbildung 3.10:	
Nüchtern freie Fettsäuren bei der Erstuntersuchung und Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion adjustiert für die Änderung des Körpergewichts und der Insulinsensitivität in der Gesamtgruppe.....	42
Abbildung 3.11:	
Nüchternspiegel der freien Fettsäuren bei der Erstuntersuchung und Änderung der ersten Phase der Insulinsekretion adjustiert für die Änderung des Körpergewichts und der Insulinsensitivität in den Einzelgruppen NGT und IGT.....	44
Abbildung 4.1:	
Hypothese zum zeitlichen Verlauf der Entstehung des Diabetes mellitus Typ 2	54

6. Anhang

6.5. Normwertetabelle

Albumin (im Serum)	3,4	4,8	g/dl	x145	493	696	µmol/l
Albumin (im Urin)		< 20	mg/l				
(bei normaler Nierenfunktion)		< 20	mg/g Krea				
Calcium, gesamtes	8,4	10,4	mg/dl	x0,25	2,1	2,6	mmol/l
Calcium, ionisiertes							
korrigiert auf pH 7,40							
- Vollblut (anaerob)					1,14	1,29	mmol/l
- Serum					1,19	1,29	mmol/l
Calcium (im Urin)							
- normale Kost						< 6	mmol/24 h
- Calcium-arme Kost(<800 mg/d)						< 4	mmol/24 h
Chlorid					96	110	mmol/l
Cholesterin, gesamt Risiko gering	130	190	mg/dl	x0,026	3,4	5	mmol/l
Cholesterin - Differenzierung							
- HDL-Cholesterin							
Männer							
Risiko hoch	< 35		mg/dl	x0,026	< 0,9		mmol/l
Risiko mäßig	35	55	mg/dl	x0,026	0,9	1,4	mmol/l
Risiko gering	> 55		mg/dl	x0,026	> 1,4		mmol/l
Frauen							
Risiko hoch	< 45		mg/dl	x0,026	< 1,2		mmol/l
Risiko mäßig	45	65	mg/dl	x0,026	1,2	1,7	mmol/l
Risiko gering	> 65		mg/dl	x0,026	> 1,7		mmol/l
- LDL-Cholesterin							
Risiko gering		< 115	mg/dl	x0,026		< 3	mmol/l
Risiko mäßig	115	160	mg/dl	x0,026	3	4,2	mmol/l
Risiko hoch	> 160		mg/dl	x0,026	> 4,2		mmol/l
Cortisol (im Serum)							
8 Uhr (nüchtern, in Ruhe)	5	23	µg/dl	x28	140	504	nmol/l
16 Uhr (bezogen auf 8 Uhr-Wert)		< 50	%				
Cortisol (im Urin)	12	90	µg/24 h	x2,8	34	252	nmol/24 h
C-Peptid (nüchtern)	0,43	2,5	ng/ml	330	140	830	pmol/l
CRP (C-reakt. Prot.)		< 0,5	mg/dl				
Eisen (im Blut)							
Männer	70	160	µg/dl	x0,18	13	29	µmol/l
Frauen	60	150	µg/dl	x0,18	11	27	µmol/l
Eisen (im Urin)	60	100	µg/24 h	x0,018	1,1	1,8	µmol/24 h
Eiweiß, gesamtes	6,5	8,5	g/dl				
Ferritin							
Männer	3	30	µg/dl				
Frauen	1	20	µg/dl				
Fettsäuren, freie (NEFA)					300	1000	µmol/l
IL6		< 5	pg/ml				

6. Anhang

Insulin (nüchtern)						
Erwachsene	< 25		mU/l	ca. 7	< 175	pmol/l
Glukose-Belastung						
Bewertungskriterien oGTT						
(European Diabetes Policy Group):						
Plasma-Glukose venös						
Diabetes mellitus						
nüchtern	> 125		mg/dl	x0,056	> 7	mmol/l
2h-Wert oGTT	> 200		mg/dl	x0,056	> 11	mmol/l
Pathol. Gluk. Toleranz						
nüchtern	110	125	mg/dl	x0,056	6	7 mmol/l
2h-Wert oGTT	140	199	mg/dl	x0,056	7,8	11 mmol/l
Pathol. Nüchtern-Glykämie						
nüchtern	110	125	mg/dl	x0,056	6	7 mmol/l
2h-Wert oGTT	< 140		mg/dl	x0,056	< 7,8	mmol/l
Plasma-Glukose kapillär						
Diabetes mellitus						
nüchtern	> 125		mg/dl	x0,056	> 7	mmol/l
2h-Wert oGTT	> 220		mg/dl	x0,056	> 12	mmol/l
Pathol. Gluk. Toleranz						
nüchtern	110	125	mg/dl	x0,056	6	7 mmol/l
2h-Wert oGTT	160	219	mg/dl	x0,056	8,9	12 mmol/l
Pathol. Nüchtern-Glykämie						
nüchtern	110	125	mg/dl	x0,056	6	7 mmol/l
2h-Wert oGTT	< 160		mg/dl	x0,056	< 8,9	mmol/l
Vollblut-Glukose venös						
Diabetes mellitus						
nüchtern	> 110		mg/dl	x0,056	> 6	mmol/l
2h-Wert oGTT	> 180		mg/dl	x0,056	> 10	mmol/l
Pathol. Gluk. Toleranz						
nüchtern	100	109	mg/dl	x0,056	5,5	6 mmol/l
2h-Wert oGTT	120	179	mg/dl	x0,056	6,7	10 mmol/l
Pathol. Nüchtern-Glykämie						
nüchtern	100	109	mg/dl	x0,056	5,5	6 mmol/l
2h-Wert oGTT	< 120		mg/dl	x0,056	< 6,7	mmol/l
Vollblut-Glukose kapillär						
Diabetes mellitus						
nüchtern	> 110		mg/dl	x0,056	> 6	mmol/l
2h-Wert oGTT	> 200		mg/dl	x0,056	> 11	mmol/l
Pathol. Gluk. Toleranz						
nüchtern	100	109	mg/dl	x0,056	5,5	6 mmol/l
2h-Wert oGTT	140	199	mg/dl	x0,056	7,8	11 mmol/l
Pathol. Nüchtern-Glykämie						

6. Anhang

nüchtern	100	109	mg/dl	x0,056	5,5	6	mmol/l
2h-Wert oGTT		< 140	mg/dl	x0,056		< 7,8	mmol/l
GOT (AST)							
(37° C, IFCC) Männer		< 35	U/l	x16,67		< 583	nKat/l
(37° C, IFCC) Frauen		< 31	U/l	x16,67		< 517	nKat/l
(25° C)		< 18	U/l	x16,67		< 300	nKat/l
GPT (ALT)							
(37° C, IFCC) Männer		< 45	U/l	x16,67		< 750	nKat/l
(37° C, IFCC) Frauen		< 35	U/l	x16,67		< 583	nKat/l
(25° C) Männer		< 22	U/l	x16,67		< 367	nKat/l
(25° C) Frauen		< 17	U/l	x16,67		< 283	nKat/l
gamma-GT (GGT)							
(37° C, IFCC) Männer		< 55	U/l	x16,67		< 917	nKat/l
(37° C, IFCC) Frauen		< 38	U/l	x16,67		< 633	nKat/l
(25° C) Männer		< 28	U/l	x16,67		< 467	nKat/l
(25° C) Frauen		< 18	U/l	x16,67		< 300	nKat/l
Harnsäure							
Männer, Frauen - Postmenop.	3,4	7,0	mg/dl	x59,5	202	416	µmol/l
- Prämenop.	2,4	5,7	mg/dl	x59,5	143	339	µmol/l
Harnsäure (im Urin)	100	1 000	mg/24 h	x0,006	0,6	6,0	mmol/24 h
Harnstoff	12	46	mg/dl	x0,17	2,0	7,7	mmol/l
Harnstoff (im Urin)	20	35	g/24 h	x16,7	330	580	mmol/24 h
HbA1c (EDTA-Blut)	4,3	6,1	%				
Homocystein						<15	µmol/l
IL6		< 5	pg/ml				
Insulin (nüchtern)							
Erwachsene		< 25	mU/l	ca. 7		< 175	pmol/l
Kreatinin (im Serum)							
Männer		< 1,3	mg/dl	x88	26	106	µmol/l
Frauen		< 1,1	mg/dl	x88	26	79	µmol/l
Lipoprotein (a) = Lp (a)							
Graubereich	25	30	mg/dl				
Magnesium	1,7	2,5	mg/dl	x0,412	0,7	1,0	mmol/l
Natrium (im Serum/Plasma)					136	148	mmol/l
Natrium (im Urin)					80	240	mmol/24 h
Phosphat (im Serum)	2,6	4,5	mg/dl	x0,323	0,8	1,5	mmol/l
Phosphat (im Urin)	800	2 000	mg/24 h	x0,032	25	65	mmol/24 h
Prolactin (vormittags)		< 15	µg/l	x0,044		< 0,66	nmol/l
TNF-alpha		< 8	pg/ml				
Transferrin	200	360	mg/dl				
Triglyceride (nüchtern)		< 150	mg/dl	x0,0113		< 1,69	mmol/l
- Graubereich	150	200	mg/dl	x0,0113	1,69	2,26	mmol/l
				(MG 885)			
TSH							
- Basalwert	0,4	2,5	mU/l				

6.6. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Andreas Fritsche für die Vergabe des interessanten Themas und die jederzeit sehr gute Betreuung der Arbeit bedanken. Seine Anregungen und Ratschläge haben mir sehr geholfen.

Weiterhin bedanke ich mich bei Frau Dr. Lucia Joel, Fr. Dr. Silke Schäfer, Frau Dr. E. Heller, Frau Dr. F. Shirkavand, Herrn Dr. Kilian Rittig, Herrn Dr. Michael Haap, Herrn Dr. Claus Thamer und Herrn Dr. Jan Stock für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche und ihre Unterstützung bei der Untersuchung der Probanden.

Ganz besonders gilt mein Dank auch Frau Elke Maerker, Frau Jutta Bader, Frau Anna Bury, Frau Heike Lutz und Frau Dr. Martina Guthoff für die gute Einweisung in den Untersuchungsablauf und die vielen Hilfestellungen, die eine hervorragende Zusammenarbeit ermöglicht haben.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. Kerstin Kirchhoff, die mir bei der Korrektur der vorläufigen Endfassung noch viele Tipps gegeben hat.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Dank und meine Hochachtung an alle teilnehmenden Probanden aussprechen; ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen!

Meinem Lebensgefährten Volker Graf danke ich für die geduldigen Hilfestellungen bei der PC-Arbeit. Für das Korrekturlesen und die stilistische Überarbeitung danke ich ganz herzlich meinem Bruder Tobias.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern und meiner Patentante Frau Gefion Schwarz bedanken, die mich während meines gesamten Studiums unterstützt und mir diese Promotion ermöglicht haben.

6.7. Curriculum vitae

Mirjam Elisabeth Steigenberger

geboren am 14.04.1980 in Stuttgart Bad Cannstatt

Nationalität: Deutsch
Familienstand: ledig
Eltern: Ulrich Robert Steigenberger, Diplomingenieur
Friedrun Dorothea Steigenberger, geb. Schwarz,
Med. techn. Laborassistentin (MTLA), Arzthelferin
Geschwister: Tobias Michael Steigenberger, 22 Jahre

Schulbildung:

09/1987 – 07/1991 Pestalozzi Grundschule in Stgt. Vaihingen
09/1991 - 06/2000 Hegel-Gymnasium in Stgt. Vaihingen
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Hochschulausbildung:

10/2000 – 04/2007 Studium der Medizin an der Eberhad-Karls-
Universität Tübingen
09/2002 Ärztliche Vorprüfung
08/2003 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2006 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2006 – 06/2006 2-monatiger Abschnitt des Praktischen
Jahres in der Abteilung für Innere Medizin am Hôpital
Civil, Hôpitaux Universitaires de Straßbourg,
Université Louis Pasteur (Frankreich)
24/04/2007 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
seit 05/2007 Promotion an der Universität Tübingen
seit 11/2007 Assistenzärztin im Klinikum Ludwigsburg, Abteilung
Innere Medizin I