

Aus dem Deutschen Diabetes Zentrum (DDZ)

Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung

an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Institut für Klinische Diabetologie

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Michael Roden

Einfluss von Lipiden und Inflammation auf die Insulinsensitivität

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

vorgelegt von

Dorothea Duykers

2017

Als Inauguraldisseration gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Gez.: Dorothea Duykers

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutacher: Prof. Dr. med. Michael Roden

Zweitgutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Schmitt

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Nowotny, B., Zahiragic, L., Krog, D., Nowotny, P.J., Herder, C., Carstensen, M., Yoshimura, T., Szendroedi, J., Phielix, E., Schadewaldt, P., Schlööt, N.C., Shulman, G.I., Roden, M., (2013). Mechanisms underlying the onset of oral lipid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes*, 62(7), 2240-2248

ZUSAMMENFASSUNG

Die Insulinresistenz wird als zentrale Komponente in der Entstehung des Typ 2 Diabetes gesehen, deren pathophysiologischer Mechanismus beim Menschen bisher nicht vollständig geklärt ist. In der multifaktoriellen Genese werden sowohl inflammatorische Mechanismen wie eine Aktivierung der toll-like-Rezeptoren, aber auch eine erhöhte Verfügbarkeit von freien Fettsäuren (FFA) mit intrazellulärer Akkumulation von Diacylglycerolen (DAG)/Ceramiden sowie eine Aktivierung von Proteinkinase-C (PKC)-Isoformen diskutiert. Bei Gesunden kann eine intravenöse Gabe von freien Fettsäuren eine Insulinresistenz über die Erhöhung von DAG und PKC auslösen, andererseits führt eine fettreiche Mahlzeit zu einem systemischen Anstieg von Lipopolysaccharid (LPS) und proinflammatorischen Immunmarkern. Daher sollte in dieser Studie untersucht werden, ob durch die orale Gabe von Fett im Vergleich zur Infusion von Lipiden oder niedrigdosiertem LPS eine Insulinresistenz durch einen Anstieg der FFA, eine Immunaktivierung oder eine Kombination beider Mechanismen induziert werden kann.

In dieser Studie wurde die Gesamtkörper- und hepatische Insulinsensitivität mittels hyperinsulinämischen, euglykämischen Clamp unter Verwendung von 6,6 $^2\text{H}_2$ -Glukose in 8 gesunden Probanden nach intravenöser Gabe einer Sojaölemulsion über 6 Stunden, einer kalorienäquivalenten oralen Gabe von Sojaöl und einer intravenösen Injektion von LPS im Vergleich zu einer Kontrollinfusion mit Glycerol untersucht. Des Weiteren wurden die systemischen Spiegel von FFA, Insulin, Inkretinen und zirkulierenden Immunmarkern bestimmt und die Substratoxidation von Glukose und Lipiden mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt.

Sowohl die orale Fettaufnahme und intravenöse Fettgabe ebenso wie die systemische LPS-Gabe reduzierten die Gesamtkörper-Insulinsensitivität in vergleichbarem Ausmaß um 48%, 44% bzw. 59%, während die hepatische Insulinsensitivität nur nach der intravenösen Fettgabe reduziert war. Nach der i.v. Fettgabe war ein kontinuierlicher Anstieg der freien Fettsäuren im Plasma auf 178% bis zum Ende der Intervention zu beobachten, nach LPS-Gabe wurden vergleichbare Spiegel erreicht. Ein Anstieg der zirkulierenden Immunmarker $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 und IL-1ra, des Stresshormons Cortisol sowie von klinischen Zeichen einer Inflammation erfolgte ausschließlich nach systemischer LPS-Applikation. Nur die orale Fettaufnahme führte zu einem Inkretinanstieg.

Somit konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass eine orale Fettgabe zu einer vergleichbaren Gesamtkörper-Insulinresistenz führt wie das Modell der Lipidinfusion und eine systemische LPS-Gabe. Während die Insulinresistenz nach i.v. Lipidgabe mit einem Anstieg der FFA assoziiert ist, sind an der LPS-induzierten Insulinresistenz sowohl ein FFA-Anstieg als auch eine systemische Entzündungsreaktion beteiligt. Dem gegenüber sind nach oraler Fettgabe keine systemischen Entzündungsprozesse an der Entstehung der Insulinresistenz beteiligt, eine Vermittlung über andere FFA-assozierte Prozesse unabhängig von den systemischen Spiegeln kann nicht ausgeschlossen werden.

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Acyl-CoA	Acyl-Coenzym A
ADA	American Diabetes Association
AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
AP	Alkalische Phosphatase
AP-1	Aktivator-Protein-1
ATP	Adenosintriphosphat
ATP-III	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
BIA	Bioimpedanzanalyse
BMI	Body Mass Index
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CER	Ceramide
DAG	Diacylglycerole
DDG	Deutsche Diabetes Gesellschaft
ECP	Euglykämischer pankreatischer Clamp
E.G.I.R	European Group for the Study of Insulin Resistance
EGP	Endogene Glukoseproduktion
EKG	Elektrokardiogramm
FFA	Freie Fettsäuren (free fatty acids)
G-6-P	Glukose-6-Phosphat
GADA	Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase
GIP	Gastric inhibitory Peptide
GLP-1	Glucagon-like peptide-1
GLUT-4	Glukosetransporter-4
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GOX	Glukoseoxidation
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
GS	Glykogensynthase
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HEC	Hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp

HDL	High density lipoprotein
HIV	Human immunodeficiency virus
HOMA-R	Homeostasis model assessment
HRP	Horseradish Peroxidase
IA-2A	Insulinoma associated-2 autoantibody
IAA	Insulin autoantibody
ICA	Islet cell antibody
IDF	International Diabetes Federation
IFG	Impaired fasting glucose
IGT	Impaired glucose tolerance
IL- 6/-8	Interleukin- 6/-8
IMCL	Intramyozelluläre Lipide
IRS-1	Insulinrezeptorsubstrat 1
IST	Insulinsuppressionstest
ITT	Insulintoleranztest
IVGTT	Intravenöser Glukosetoleranztest
JNK 1	c-Jun N-terminale Kinase-1
LADA	Latent Autoimmune Diabetes in Adults
LCCoA	Long chain coenzyme A
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	Low density lipoprotein
LPS	Lipopolysaccharid
MCH	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres Zellvolumen
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid
NFκB	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
OGTT	Orales Glukosetoleranztest
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit

PIP	Phosphatidylinositol
PKC	Proteinkinase C
PPAR γ	Peroxisome proliferator-activated receptor γ
PTP1B	Phosphotyrosinphosphatase 1B
QUICKI	Quantitative insulin sensitivity check index
R _a	Rate of appearance
R _d	Rate of disappearance
TG	Triglyzeride
TLR 2/4	Toll-like receptor 2/4
TNF α	Tumornekrosefaktor α
TTR	Tracer-to-tracee ratio
WHO	World Health Organisation
γ -GT	γ -Glutamyltransferase

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung.....	I
Abkürzungsverzeichnis.....	II
Inhaltsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Diabetes mellitus.....	1
1.2 Typ 2 Diabetes.....	3
1.2.1 Epidemiologie des Typ 2 Diabetes	3
1.2.2 Begleit- und Folgeerkrankungen.....	5
1.3 Pathogenese des Typ 2 Diabetes.....	7
1.3.1 Insulinsekretionsstörung und Betazellfunktion.....	7
1.3.2 Insulinresistenz.....	10
1.3.2.1 Definition.....	10
1.3.2.2 Ursachen und Risikofaktoren.....	10
1.4 Messung der Insulinresistenz.....	14
1.4.1 Statische Tests / Modellierungen.....	14
1.4.2 Dynamische Tests	15
1.4.3 Glukose-Clamp-Techniken.....	16
1.4.3.1 Prinzipien des Clamps	17
1.5 Mechanismen der Entstehung der Insulinresistenz	18
1.5.1 Einfluss der freien Fettsäuren auf den Muskel.....	19

1.5.2	Einfluss der Fettsäuren an der Leber	22
1.5.3	Inflammation, Lipidstoffwechsel und Insulinresistenz	24
2	Ziele der Arbeit.....	27
3	Material und Methoden.....	30
3.1	Verwendete Infusions- und Nährlösungen.....	30
3.1.1	Orale Fettemulsion.....	30
3.1.2	Parenterale Fettinfusion und andere Infusionen	30
3.1.3	LPS-Infusion.....	30
3.1.4	Glyzerol-Infusion	30
3.1.5	Kochsalzlösung.....	30
3.1.6	Insulinlösung	30
3.1.7	Glukoselösungen.....	31
3.2	Verbrauchsmaterialien und Geräte	31
3.2.1	Verbrauchsmaterialien	31
3.2.2	Geräte.....	34
3.3	Bestimmungsmethoden	35
3.3.1	Glukose	35
3.3.2	Insulin, C-Peptid und Glukagon.....	35
3.3.3	Lipidparameter.....	35
3.3.3.1	Triglyzeride.....	35
3.3.3.2	Freie Fettsäuren (FFA).....	35

3.3.4	Cortisol	36
3.3.5	Deuterierte Glukose	36
3.3.6	Inkretine.....	36
3.3.7	Zytokine (IL-6, IL1ra, TNFα)	36
3.3.8	Glyzerol.....	37
3.4	Methoden.....	37
3.4.1	Studiendesign.....	37
3.4.2	Probandenkollektiv und Rekrutierungsstrategien	37
3.4.3	Screeninguntersuchung.....	38
3.4.4	Randomisierung.....	39
3.4.5	Ein- und Ausschlusskriterien.....	40
3.4.6	Interventionen und Testablauf.....	41
3.4.7	Mögliche unerwünschte Wirkungen der verabreichten Medikamente	42
3.4.8	Abbruchkriterien.....	44
3.4.9	Untersuchungsmodule der einzelnen Untersuchungstage.....	44
3.4.9.1	Fragebogen und Anthropometrie	44
3.4.9.2	Vitalparameter	44
3.4.9.3	Hyperinsulinämischer – euglykämischer Clamp.....	45
3.4.9.4	Indirekte Kalorimetrie	45
3.4.9.5	Bestimmung der endogenen Glukoseproduktion (EGP).....	46
3.4.10	Laboranalytik.....	47

3.4.11	Statistik	47
4	Resultate	50
4.1	Probandenkollektiv.....	50
4.1.1	Basischarakteristika.....	52
4.2	Insulinsensitivität	53
4.3	Hepatische Insulinsensitivität.....	53
4.4	Fettstoffwechsel.....	54
4.5	Substratoxidation	56
4.6	Inkretine.....	58
4.7	Stress und Entzündung.....	59
4.8	Vitalparameter	60
5	Diskussion.....	61
5.1	Insulinsensitivität	61
5.2	Fettstoffwechsel.....	63
5.3	Stress und Entzündung.....	64
6	Anlagen.....	A1
7	Eidesstattliche Versicherung.....	A16

1 EINLEITUNG

Die Anzahl der Patienten mit Adipositas und Typ 2 Diabetes steigt weltweit stetig an. Eine sich häufig auf der Grundlage von Übergewicht entwickelnde Insulinresistenz stellt dabei neben der Betazell dysfunktion einen wesentlichen Faktor in der Entstehung des Typ 2 Diabetes dar. Die Pathogenese der Insulinresistenz ist bisher nicht endgültig geklärt, wobei jedoch eine Dysregulation des Fettstoffwechsels, insbesondere ein Überangebot von freien Fettsäuren (FFA) oder nicht-veresterten Fettsäuren, eine wesentliche Rolle spielt. Auch wird bei Stresssyndromen, die mit erhöhter Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse (HPA-Achse) einhergehen, sowie im Rahmen von chronischen entzündlichen Prozessen eine Insulinresistenz beobachtet.

In dieser Studie sollte nun untersucht werden, in welchen kausalen Zusammenhang die beiden Faktoren Entzündung und Fettstoffwechsel bei der Entstehung der Insulinresistenz stehen.

Es war bekannt, dass die parenterale kurzfristige Infusion von Triglyzeriden einen Anstieg der FFA bedingt, der rasch eine Insulinresistenz auslöst. Ob die orale Gabe von Triglyzeriden eine vergleichbare Wirkung hat, war bisher ungeklärt. Ebenso war noch unbekannt, ob die intravenöse Injektion von Endotoxin, die eine systemische Entzündungsreaktion hervorruft, auch eine Insulinresistenz bewirkt, die durch ähnliche Wirkungsmechanismen erklärbar ist.

Diese Fragen sollten anhand der durchgeführten Untersuchungen im Rahmen der Studie mittels Bestimmung der peripheren und hepatischen Insulinresistenz sowie inflammatorischen Parameter beantwortet werden.

1.1 Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus umfasst eine Gruppe von Stoffwechselstörungen, die durch chronische Hyperglykämie charakterisiert ist. Ursache ist entweder eine gestörte Insulinsekretion, eine mangelnde Insulinwirkung oder die Kombination von beidem.

Bereits seit 1965 wird der Diabetes anhand unterschiedlicher und sich immer verändernder Kriterien von unterschiedlichen Gesellschaften [z.B. Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG), Weltgesundheitsorganisation (WHO) und American Diabetes Association (ADA)] klassifiziert (1). Seit 2000 existiert eine übereinstimmende Klassifikation der Diabetesformen, in vier übergeordnete Typen eingeteilt:

- I. Typ 1 Diabetes
- II. Typ 2 Diabetes
- III. Andere spezifische Diabetes-Typen
- IV. Gestationsdiabetes.

Der **Typ 1 Diabetes** beruht auf einer progredienten (idiopathisch oder immunologisch vermittelten) Zerstörung der insulinproduzierenden β -Zellen, die üblicherweise zum absoluten Insulinmangel führt. Klassische Symptome sind Polyurie, Polydipsie, Ketoazidose und Gewichtsverlust. In der Regel beginnt die Erkrankung mit plötzlich einsetzender Symptomatik bevorzugt in jüngeren Lebensjahren. Dennoch kann sich der Typ 1 Diabetes auch im späteren Lebensalter manifestieren. Bei der *immunologisch* vermittelten Form (**Typ 1A Diabetes**) sind verschiedene serologische Marker nachweisbar: Inselzellantikörper (ICA), Insulinautoantikörper (IAA), Autoantikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GADA) und Autoantikörper gegen Tyrosinphosphatase (IA-2A). Genetische Faktoren, wie z.B. eine positive Familienanamnese oder bestimmte HLA-Assoziationen, zählen ebenfalls dazu. Auch der latent insulinpflichtige Diabetes mellitus im Erwachsenenalter (LADA, latent autoimmune diabetes in adults) wird zu dieser Form gezählt.

Davon abgegrenzt wird der *idiopathische* **Typ 1B Diabetes**, bei dem keine Hinweise eines Autoimmunprozesses zu finden sind. Der idiopathische Typ kommt in Deutschland selten vor.

Der **Typ 2 Diabetes** ist die häufigste Form des Diabetes in Deutschland. Er führt seltener zu schweren Stoffwechselentgleisungen, aber sehr häufig zu schwerwiegenden Komplikationen, die auf mikro- und makroangiopathischen Schäden beruhen. In der Entstehung des Typ 2 Diabetes spielen vor allem die gestörte Insulinsekretion auf Basis

einer beeinträchtigten Insulinwirkung in unterschiedlicher Ausprägung eine Rolle. Oft findet sich eine genetische Disposition, über die bisher im Detail wenig bekannt ist. Des Weiteren zählen Übergewicht, hochkalorische Ernährung, höheres Lebensalter und mangelnde körperliche Aktivität zu den entscheidenden Faktoren.

Unter **Typ 3 Diabetes** fasst man jene spezifischen Formen zusammen, deren Genese in unterschiedlichen Grunderkrankungen liegen wie z.B. Erkrankungen des exokrinen Pankreas (Pankreatitis, zystische Fibrose), endokriner Organe (z.B. Cushing-Syndrom, Akromegalie), medikamentöse Einflüsse (z.B. Kortisontherapie), genetische Defekte der Insulinsekretion und -wirkung (z.B. MODY), andere genetische Defekte wie z.B. Klinefelter-Syndrom und Infektionen. Einige dieser Diabetesformen sind bei Behebung der Grunderkrankung reversibel.

Als **Gestationsdiabetes (Typ 4 Diabetes)** bezeichnet man eine Hyperglykämie, die durch besondere Kriterien des standardisierten oralen Glukosetoleranztests (OGTT) definiert ist und erstmals während einer Schwangerschaft festgestellt wird. Dies ist die häufigste Stoffwechselerkrankung in der Schwangerschaft. Die Diagnosestellung ist entscheidend, da der Gestationsdiabetes mit erhöhter Morbidität für Mutter und Kind einhergeht. Der Gestationsdiabetes stellt eine Variante des Prä-Typ 2 Diabetes dar, da Frauen mit einem Gestationsdiabetes in der Vorgeschichte ein hohes Risiko haben, später im Leben einen Typ 2 Diabetes zu entwickeln.

1.2 Typ 2 Diabetes

1.2.1 Epidemiologie des Typ 2 Diabetes

Der Typ 2 Diabetes gehört zu den häufigsten, schwersten und aufgrund der Folgeerkrankungen kostenträchtigsten Krankheitsbildern, deren Prävalenz weltweit ansteigt. Die Anzahl der Menschen mit Typ 2 Diabetes wurde für das Jahr 2011 auf ca. 336 Millionen weltweit geschätzt. Hochrechnungen sehen einen Anstieg der Anzahl bis zum Jahr 2030 auf 556 Millionen (2, 3). Dabei ist die höchste Steigerung der Prävalenz bei älteren Menschen (>65 Jahre) zu beobachten. In Deutschland betrug die Prävalenz von Menschen mit bekanntem Typ 2 Diabetes im Jahr 2000 4,1%, das bedeutet ca. 2,6

Millionen Patienten mit Typ 2 Diabetes. In einer Studie der kooperativen Gesundheitsforschung der Region Augsburg (KORA-Studie) zeigte sich in der bevölkerungsrepräsentativen Studienpopulation eine Gesamtprävalenz des bekannten Typ 2 Diabetes von 8%, wobei weitere 8% der Studienpopulation einen bisher nicht diagnostizierten Typ 2 Diabetes aufwiesen, was damit einer Gesamtprävalenz von bis zu 16 % entsprechen könnte (4). Die Häufigkeit des Diabetes ist allerdings regional unterschiedlich, sodass die mittlere Prävalenz zwischen 6-8% beträgt (5-7).

Nach DDG-Kriterien wird die Diagnose des Diabetes mellitus entweder durch die wiederholte Messung einer erhöhten venösen Nüchternglukose (≥ 126 mg/dl), einer venösen Glukose >200 mg/dl zu einem beliebigen Zeitpunkt oder durch einen pathologischen 2-Stunden Blutglukosewert nach oralem Glukosebelastungstest mit 75 g Glukose (Tabelle 1) gestellt (1). Die gestörte Glukosetoleranz (Impaired Glucose Tolerance, IGT) zeigt sich in einem pathologischen 2 h - Blutglukosewert im OGTT, der zwischen 140–200 mg/dl liegt. Von einer abnormen Nüchternglukose (Impaired Fasting Glucose, IFG) spricht man bei einem Nüchternglukosewert über 100 mg/dl aber unter 126 mg/dl.

Tabelle 1 Definitionen gestörte Glukosetoleranz, abnorme Nüchternglukose und Diabetes mellitus anhand der venösen Plasmaglukosewerte

	Nüchtern-Glukose (mg/dl)	2 – Stunden – Glukose im OGTT (mg/dl)
Abnorme Nüchternglukose (Impaired Fasting Glucose)	>100 und <126	<140
Gestörte Glukosetoleranz (Impaired Glucose Tolerance)	< 126	$140 - <200$
Diabetes mellitus	≥ 126	≥ 200

Zudem gibt es eine weit größere Zahl von Patienten mit den so genannten Vorstadien des Diabetes wie Impaired Glucose Tolerance (IGT) und Impaired Fasting Glucose (IFG). Die

Gesamtprävalenz einer IGT und der IFG lagen im Rahmen der KORA-Studie bei 16,4% bzw. 7%. Würde man diese Daten auf Gesamtdeutschland anwenden, fänden sich ungefähr 1,5 Millionen Patienten mit Typ 2 Diabetes und ca. 3 Millionen Patienten mit IGT in der Gruppe der 55-74jährigen (4).

Bei den Folgeerkrankungen sind die kardiovaskulären Erkrankungen wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und ischämische Gangrän als Angiopathien mit 75% die häufigsten Todesursachen für Patienten mit Typ 2 Diabetes, 25% aller Ausgaben im Gesundheitssystem müssen allein für Patienten mit Diabetes ausgegeben werden (8, 9).

1.2.2 Begleit- und Folgeerkrankungen

Patienten mit Diabetes mellitus haben ein deutlich erhöhtes Risiko für *Herz-Kreislauferkrankungen* wie z.B. Schlaganfall und Herzinfarkte (10), so dass auf eine Vermeidung oder Reduzierung weiterer Risikofaktoren streng geachtet werden sollte.

Diese Risikofaktoren sind unter anderem die schlechte Blutglukoseeinstellung, Hyperlipidämie, Übergewicht, Rauchen, Bewegungsmangel, Hypertonie und erhöhte Harnsäurespiegel.

Akute Myokardinfarkte treten bei Diabetespatienten ungefähr drei- bis fünfmal häufiger auf als bei Stoffwechselgesunden, das Risiko zu versterben ist 1,5fach erhöht. Wichtigster begleitender Risikofaktor ist dabei die arterielle Hypertonie. Auch das Risiko für ischämische Zerebralinhalte ist bei Patienten mit Diabetes erhöht. Das Risiko zu Versterben für Menschen mit Diabetes ohne einen Myokardinfarkt in der Vorgeschichte ist dem Risiko von Gesunden mit vorangegangenem Myokardinfarkt gleichzusetzen (11).

Die *Diabetische Nephropathie* tritt mit einer durchschnittlichen Progression von 2,5% pro Jahr auf. Bei manifester Nephropathie entwickeln innerhalb von 20 Jahren 75% der Patienten mit Typ 1 Diabetes und 20% der Patienten mit Typ 2 Diabetes eine terminale Niereninsuffizienz. 50% aller Dialysepatienten in Europa sind an Diabetes erkrankt (12).

Zusätzliche Risikofaktoren für eine Beschleunigung der Progredienz sind u.a. arterielle Hypertonie, Ausmaß der Albuminurie und die Güte der Stoffwechseleinstellung (HbA1c-

Wert (12, 13). Die diabetische Nephropathie wird anhand der Kreatininclearance und der Albuminausscheidung in verschiedene Stadien eingeteilt (14, 15).

Die Entstehung einer *diabetischen Polyneuropathie (peripher / autonom)* ist abhängig von Diabetesdauer und Güte der Stoffwechseleinstellung. 50% der Patienten haben nach 10jähriger Krankheitsdauer eine Neuropathie. Die Pathogenese ist weiterhin nicht eindeutig geklärt, möglicherweise steht eine Mikrozirkulationsstörung der Vasa nervorum und metabolische Störungen dahinter. Man unterscheidet dabei eine periphere, sensomotorische und autonome Polyneuropathie (16). Die periphere Polyneuropathie tritt am häufigsten auf (80%) und wird durch sensible Reiz- und Ausfallerscheinungen, Areflexie, verminderte Thermosensibilität und Schmerzempfindung mit letztendlich eventuell auftretenden motorischen Störungen gekennzeichnet (16). Bei der autonomen diabetischen Polyneuropathie handelt es sich um eine Neuropathie des vegetativen Nervensystems (sympathisch und parasympathisch) mit z.B. Verminderung der Herzfrequenzvariabilität, orthostatische Hypotonie, Gastroparese, Blasenentleerungsstörungen, erektiler Dysfunktion und Störung der Thermoregulation (17, 18).

Das *diabetische Fuß-Syndrom* ist ein Syndrom verschiedener Krankheitsbilder unterschiedlicher Ätiologie, bei dem es durch Fußverletzungen zu infizierten Ulzera und Komplikationen bis hin zur Amputation kommt (19, 20). Bis zu 25% der Patienten mit Diabetes erkranken zeitlebens an einem diabetischen Fußsyndrom (21, 22). Ursächlich sind neben einer diabetischen sensomotorischen Neuropathie, einer Makroangiopathie (pAVK) auch die Veränderungen der zellulären Wundheilung im Rahmen des Diabetes sowie Fußdeformitäten (z.B. Hallux valgus oder Krallenzehen (23)).

Eine Einteilung der Schweregrade der Fußläsionen erfolgt in Deutschland vorwiegend nach Wagner und Armstrong, wobei auch das Vorliegen einer Infektion und / oder Ischämie mit einfließt (22, 24). International ist die Texas-Klassifikation gebräuchlicher, deren Kriterien allerdings vergleichbar sind. Unterteilt wird das Fußsyndrom zusätzlich nach dem Vorwiegen der Ursache in neuropathischen und ischämischen diabetischen Fuß (bei gleichzeitig vorliegender pAVK), wobei aber auch Mischformen häufig sind (22).

Die *Diabetische Retinopathie* ist die häufigste mikrovaskuläre Folgeerkrankung des Diabetes mellitus (17). Ungefähr 85% aller Patienten mit Diabetes haben nach 20 Jahren Erkrankungsdauer diabetisch bedingte Netzhautschäden. Fortgeschrittene Stadien sind in Deutschland die häufigste Ursache für Erblindung. Man unterteilt die Retinopathie in ein nicht-proliferatives und proliferatives Stadium sowie in die diabetische Makulopathie. Das nicht-proliferative Stadium geht dem proliferativen Stadium voraus und ist durch gesteigerte Gefäßpermeabilität und progressivem Gefäßverschluss gekennzeichnet. In der Funduskopie findet man Mikroaneurysmen. Im proliferativen Stadium findet man Gefäßneubildung und Blutungen an der Netzhaut bis zur traktionsbedingten Netzhautablösung. Die diabetische Makulopathie ist durch eine Beteiligung der Makula mit Ödembildung gekennzeichnet. Diese kann sich umschreiben als fokales Makulaödem oder diffus über die gesamte Netzhaut erstrecken.

1.3 Pathogenese des Typ 2 Diabetes

Für den Typ 2 Diabetes werden verschiedene Mechanismen der Entstehung diskutiert, deren Einflussfaktoren häufig interagierend auftreten und sowohl die Insulinsekretion als auch die Insulinresistenz beeinflussen.

1.3.1 Insulinsekretionsstörung und Betazellfunktion

Einen ursächlichen Faktor in der Entwicklung des Typ 2 Diabetes stellen Insulinsekretionsdefekte und Betazellverlust dar. Diese können bereits vor der klinischen Manifestation eines Diabetes vorliegen und nachgewiesen werden.

Die Sekretion von Insulin erfolgt pulsatil, wobei eine schnelle (einige Minuten) und eine langsame (ultradiane) Phase unterschieden wird (25). Bei einer kohlenhydratreichen Mahlzeit erfolgt durch den schnellen Anstieg des Blutglukosespiegels zuerst die schnelle Phase der Insulinsekretion. Die Sekretion wird dosisabhängig über die Höhe der Blutglukose im Splanchnikusgebiet gesteuert, sinkt der Spiegel wieder, wird entsprechend weniger Insulin ausgeschüttet. Das in die Portalvene ausgeschüttete Insulin wird zu 40-80% in der Leber extrahiert, bevor es in den systemischen Kreislauf übergeht (26). In der Leber wird durch das Insulin die hepatische Glukoseproduktion vermindert, die

Blutglukose bleibt aufgrund dieses Zusammenspiels in einem engen Rahmen. Gerade die erste schnelle Phase der Insulinsekretion ist bereits vor klinischer Manifestation eines Diabetes gestört (27-30). Im Rahmen der bisher durchgeführten Studien konnte gezeigt werden, dass die pulsatile schnelle Insulinfreisetzung ca. 75% des gesamten peripher gemessenen Insulins ausmacht (31). Dies verdeutlicht die Bedeutung der schnellen Phase der Insulinsekretion. Die Steuerung erfolgt dabei über verschiedene Mechanismen, z.B. über ein intrapankreatisches neuronales Netzwerk, Glukoseschwankungen und Hormone wie Somatostatin und Glukagon (32). Bei Patienten mit Typ 2 Diabetes oder ihren erstgradigen Verwandten wurde eine veränderte Insulinsekretion gefunden. Dies zeigte sich vor allem in der Verkürzung der schnellen pulsatischen Phase (30). Um die Blutglukosespiegel dennoch in einem engen Rahmen zu halten, kommt es meist zu einer prolongierten Sekretion von Insulin mit daraus resultierender Hyperinsulinämie (33).

FFA haben einen Einfluss auf die Funktion der Betazellen. So führt ein rascher Anstieg der freien Fettsäuren über einen Anstieg von Long-chain-acylcoenzym A (LCCoA) und Diacylglycerol (DAG) zur Aktivierung der Proteinkinase C und damit zur Freisetzung von Insulin (34). Zudem haben auch LCCoA einen bisher ungeklärten direkten stimulierenden Einfluss auf die Insulinsekretion (35). Eine chronische Erhöhung von -vor allem gesättigten- FFA resultiert in einer Verschlechterung der Insulinsekretion und Induktion der Betazellapoptose mit zunehmenden Betazellverlust. Dieser Effekt entsteht insbesondere bei gleichzeitiger Hyperglykämie, so dass man von Glukolipotoxizität sprechen kann (36). Weiterhin ist nicht abschließend geklärt, ob nicht auch ein protektiver Effekt bestimmter Fettsäuren besteht (34, 37).

Einige Studien haben gezeigt, dass die Betazellmasse bei Patienten mit einer langen Laufzeit der Diabeteserkrankung im Vergleich zu Gesunden erniedrigt ist (38). Hanley et. al (39) postulierten in ihrer Studie, dass der Verlust der Betazellmasse, vermittelt über eine erhöhte Apoptoserate und verminderte Regenerationsfähigkeit der Inselzellen, aus dem Diabetes resultiert. Dies gilt insbesondere bei adipösen Patienten mit Typ 2 Diabetes. Allerdings liegen zu wenige Daten vor, um diese Hypothese zu untermauern.

Gene, die mit einem Diabetesrisiko verbunden sind, wurden in großen genomweiten Assoziationsstudien (GWA-Studien) weltweit untersucht und mehrere Loci (derzeit 88 (40-42)) mit einem erhöhten Risiko der Entstehung eines Typ 2 Diabetes assoziiert. Jedes einzelne Risikoallel vermittelt allerdings nur eine geringe Risikoerhöhung für die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes. Mit einem Risikoallel besteht ein 5-40% erhöhtes Risiko an Diabetes zu erkranken (42). Jedoch haben Personen mit vielen Risikoallelen ein höheres Diabetesrisiko als Personen mit wenigen dieser Risikoallele (43). Insgesamt erklären die bislang bekannten Genvarianten allerdings weniger als 10% der gesamten genetischen Prädisposition (42, 42, 44). Die meisten Risikoallele, die identifiziert wurden, sind mit der Pankreasfunktion und -entwicklung assoziiert. Zu nennen wäre hier z.B. TCF7L2 oder KCNQ1 (45). Risikogene, die mit der Entstehung einer Insulinresistenz assoziiert sind, umfassen zum Beispiel Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) und Insulin-Rezeptor-Substrat 1 (IRS1). Bei Vorhandensein von Risikoallelen dieser Gene kann sich das Diabetesrisiko um etwa 15-20% erhöhen (42).

Bisher haben genetische Analysen allein einen relativ geringen prädiktiven Wert im Hinblick auf die Entstehung eines Typ 2 Diabetes, zumal einfache Parameter wie Alter, Adipositas und positive Familienanamnese eine bessere Abschätzung des Risikos erlauben (42). Eine positive Familienanamnese bedeutet ein 2 – 4fach erhöhtes Risiko an Typ 2 Diabetes zu erkranken. Das Lebenszeitrisiko für die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes liegt bei 38%, sobald ein Elternteil ebenfalls erkrankt ist (46). Möglicherweise liegen diesem Effekt Gen-Umwelt-Interaktionen zugrunde. So konnte ein Zusammenhang zwischen Umweltfaktoren und genetischen Risikofaktoren für das Risikogen TCF7L2 gezeigt werden. Bei Vorhandensein eines bestimmten Allels lag ein erhöhtes Diabetesrisiko vor, das jedoch durch eine Lebensstilintervention wieder kompensiert werden konnte (47). Dies legt nahe, dass genetische Risikofaktoren durch Umweltfaktoren modifiziert werden können und eröffnet neue Wege für eine gezielte Beratung und Prävention für Personen mit einem erhöhten genetischen Risiko.

Abschließend lässt sich bisher nicht genau sagen, ob die Ursache für die klinische Manifestation eines Typ 2 Diabetes in der Funktionsstörung der Betazelle oder dem

Betazellverlust oder in einer Kombination aus beidem liegt (48), und welche Interaktion mit einer beobachteten genetischen Prädisposition besteht (26).

1.3.2 Insulinresistenz

1.3.2.1 Definition

Insulinresistenz wurde zuerst von Berson und Yalow definiert als ein Zustand, in dem eine erhöhte Insulindosis für die Aufrechterhaltung eines quantitativ normalen Ansprechens erforderlich sind (49). Eine Insulinresistenz ist in vielen Fällen schon Jahre vor Diabetesmanifestation nachweisbar, kann aber zumindest initial aufgrund gesteigerter Insulinproduktion kompensiert werden. Erst wenn die Hyperinsulinämie aufgrund einer gestörten Synthese und Sekretion durch die Betazellen nicht mehr aufrechterhalten werden kann, kommt es zur klinischen Manifestation des Typ 2 Diabetes (50). Die Insulinresistenz wird als eine, wenn nicht die grundlegende Störung bei der Entstehung des Typ 2 Diabetes angesehen. Die Entstehung der Insulinresistenz ist multifaktoriell und wird als inadäquate Insulinantwort der Zielgewebe (Muskel, Fettgewebe und Leber) auf physiologische Effekte des zirkulierenden Insulins definiert (51). Die Hauptmerkmale bestehen in einer herabgesetzten insulinvermittelten Glukoseaufnahme in die Muskelzelle, verminderten insulinvermittelten Hemmung der hepatischen Glukoneogenese (mit daraus resultierender Hyperglykämie) und einer reduzierten insulininduzierten Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe mit Anstieg der FFA. Die Insulinresistenz wird daher als Prädiktor für die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes angesehen (52).

1.3.2.2 Ursachen und Risikofaktoren

Für die Insulinresistenz werden verschiedene Störungen auf Ebene der Zielzellen verantwortlich gemacht. Physiologisch tritt eine verminderte Insulinsensitivität z.B. im Rahmen einer Schwangerschaft, bei Infektionen oder akutem Stress durch die adaptive akute Freisetzung von Glukokortikoiden und Katecholaminen auf. Eine Prolongation dieser Stressantwort im Sinne von chronischem Hyperkortisolismus führt zur Akkumulation von viszeralem Fettgewebe und Insulinresistenz und ermöglicht damit die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes (53). Unabhängig davon werden für die Entstehung

einer Insulinresistenz neben einer genetischen Prädisposition als klassische Risikofaktoren ein Mangel an körperlicher Bewegung, zunehmendes Alter, Adipositas und bestimmte Bestandteile der Ernährung gesehen, die zu Störungen der Mitochondrienfunktion, der Insulinrezeptorsignalkaskade und einer chronischen, subklinischen Entzündungsreaktion führen (52, 54, 55).

Körperliche Inaktivität

In vielen Studien wurde der protektive Effekt von körperlichem Training auf das Risiko der Entstehung einer Insulinresistenz oder Diabetes mellitus belegt (56, 57), wobei keine klare Datenlage dafür existiert, welche körperliche Aktivität – Ausdauer- oder Krafttraining – größere Vorteile in Bezug auf Diabetesprävention oder –therapie bietet (58, 59). Generell sollten große Muskelgruppen bewegt werden, da es sonst zu keinem Effekt auf die Insulinsensitivität des gesamten Körpers kommt (60). Des Weiteren verbessert akute und chronische körperliche Aktivität die Glukoseverwertung über insulin-abhängige und insulin-unabhängige Mechanismen. Die Verbesserung der Insulinsensitivität durch akute körperliche Aktivität resultiert zum einen aus einem verbesserten insulin-abhängigen Glukosetransport und -phosphorylierung über die Hexokinase II (HKII), der nicht durch Veränderungen des Insulinrezeptors oder seiner direkten Substrate zustande kommt, sondern durch eine erhöhte Aktivität von nachgeordneten Komponenten des Signalweges wie Phosphoinositid-3-kinase, Proteinkinase-C-Isoformen, Rac1 oder TBC1-domain family member 4 (TBC1D4) vermittelt wird (61).

Zum anderen führen Muskelkontraktionen insulin-unabhängig zu einem Anstieg von AMP und AMP-aktivierter Proteinkinase (AMPK), einem erhöhten Ausstrom von Calcium aus dem endoplasmatischen Retikulum mit einhergehender Erhöhung der Calcium-/ Calmodulin-abhängigen Proteinkinase II (CAMKII) respektive der p38 Mitogen-aktivierten Proteinkinase (62), was zu einer beschleunigten Translokation von GLUT4 zur Zellmembran und nachfolgend einem verbesserten insulin-unabhängigen Glukoseaufnahme in die Zelle führt. Chronisches Krafttraining stimuliert außerdem insulin-unabhängig den mammalian target of rapamycin (mTOR)/ serine kinase 6 (S6K) Signalweg, der zu einer gesteigerten Proteinsynthese und Muskelmasse führt (63). Darüber

hinaus steigert langfristiges körperliches Training die Spiegel des Peroxisome-proliferator activated receptor- γ coactivator 1 α (PCG1 α) und damit nachfolgend die Expression von nuclear respiration factors (NRF1 und 2), die in einer gesteigerten ATP-Synthese und Biosynthese weiterer Mitochondrien resultieren (64). Die mitochondriale Funktion ist in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus gerückt, da Veränderungen der Mitochondrien sowohl bei Insulinresistenz als auch beim Typ 2 Diabetes gefunden wurde. Dabei hängt die oxidative Kapazität der Mitochondrien von deren individueller Funktionalität und dem Gehalt an Mitochondrien im Skelettmuskel ab (65). Sowohl die Insulinresistenz als auch der Typ 2 Diabetes sind durch eine veränderte Mitochondrienfunktion sowie durch eine veränderte Morphologie gekennzeichnet (54, 66, 67). Welche möglichen Mechanismen zu einer veränderten Mitochondrienfunktion beitragen können, wird im Folgenden diskutiert (Kapitel 1.5.1).

Zusätzlich senkt regelmäßige körperliche Aktivität auch den Spiegel von FFA im Blut, die insbesondere in hohen Konzentrationen die hepatische Glukoneogenese stimulieren und mit einer Zunahme der peripheren Insulinresistenz verbunden sind. Über die Senkung der FFA-Spiegel kann die hepatische Glukoseproduktion gesenkt und der periphere Glukoseverbrauch gesteigert werden (68), so dass es auch noch Stunden nach Beendigung der Aktivität zu erniedrigten Blutglukosespiegeln kommt. Dies ist insbesondere von Bedeutung, da bei Patienten mit Typ 2 Diabetes eine erhöhte hepatische Glukoneogenese wesentlich zu den erhöhten Blutglukosespiegeln beiträgt (69). Außerdem wird durch körperliches Training der Muskelaufbau verändert, glykolytische Muskelfasern werden durch oxidative ersetzt. Diese weisen eine größere Insulinsensitivität und –wirkung auf. Darüber hinaus wird durch das Training die Kapillardichte der Muskelfasern erhöht, dies führt über Steigerung des Blutflusses und der Versorgung des Muskels zur Verbesserung von Glukosetoleranz und Insulinwirkung (70), und bei gleichzeitiger Gewichtsreduktion steigt die fettfreie Masse und das Fettgewebe (vor allem viszeral) wird reduziert (71).

Alter

In verschiedenen Studien wurde der Zusammenhang zwischen dem voranschreitenden Alter und einer reduzierten Mitochondrienfunktion gesehen (72). Sobald jedoch die unterschiedlichen Altersgruppen in einer Studie anhand des Aktivitätsniveaus verglichen wurden, konnte ähnliche Werte für die Insulinsensitivität unabhängig vom Alter gefunden werden (73-75). Somit ist beim Alterungsprozess nicht per se von der Zunahme einer Insulinresistenz auszugehen, sondern diese resultiert eher aus einem verminderten Aktivitätsniveau mit Abnahme der Muskelmasse und relativer Zunahme der Fettmasse (65).

Adipositas

Adipositas ist eine Folge einer langjährigen hyperkalorischen Ernährung und damit positiven Energiebalance. Die Mechanismen, die hinter der Entstehung der Insulinresistenz bei Adipositas stehen, sind vor allem auf eine langjährige chronische subklinische Inflamationsreaktion des Gewebes, genetischer Prädisposition, Erhöhung der freien Fettsäuren und damit einhergehend Erhöhung der intrazellulären Fettsäuren zurückzuführen (51, 76, 77). Durch die Akkumulation von intrazellulären Fettsäuren in Muskelzellen kommt es in Folge zu einer Aktivierung von neuen Isoformen der Proteinkinase-C (nPKC) und damit einhergehend zu einer Beeinträchtigung der Insulinsignalkaskade mit resultierender Insulinresistenz (76, 78, 79). Hierauf wird in Kapitel 1.5. detailliert eingegangen.

Weitere Umweltfaktoren

Zudem zeigen einige weitere Faktoren eine Korrelation mit der Entstehung eines Diabetes wie z.B. Luftverschmutzung. In der SALIA Kohortenstudie (Study on the influence of Air pollution on lung, Inflammation and Aging) konnte eine Assoziation zwischen der verkehrsbedingten Feinstaubbelastung und der Entwicklung eines Typ 2 Diabetes gefunden werden (80). Zudem konnte eine experimentelle Studie in Mäusen zeigen, dass eine vermehrte Feinstaubbelastung in der Luft eine Insulinresistenz induzieren und

systemische Level von Immunmediatoren erhöhen kann (81). Diese Faktoren können so die Entwicklung des Typ 2 Diabetes begünstigen.

Genetische Disposition

Einem Teil der Insulinresistenz liegt eine genetische Komponente zugrunde. So weisen stoffwechselgesunde Verwandte ersten Grades von Patienten mit Typ 2 Diabetes häufiger eine Insulinresistenz auf, ohne dass sich eine Erkrankung manifestiert hat, als Probanden ohne familiäre Disposition (82, 83). Diese Verwandten haben ein 40%iges Lebenszeitrisiko an einem Typ 2 Diabetes zu erkranken. Die Insulinresistenz könnte als Prädiktor für die Entwicklung eines Typ 2 Diabetes verwendet werden (77).

Pratipanawat et. al. konnten zeigen, dass die genetische Disposition mit einer reduzierten Tyrosinphosphorylierung des IRS-1 assoziiert ist, die zu einer Reduktion der Insulin-stimulierten Glukoseaufnahme in den Muskel führen kann (84).

Inzwischen wurden in genomweiten Assoziationsstudien mehr als 88 Gene identifiziert, die in Zusammenhang mit Diabetes gebracht werden können, die meisten sind allerdings mit der Insulinsekretion assoziiert und der Vorhersagewert der Gene ist nicht größer als der von klinischen Risikofaktoren (wie z.B. BMI, Alter, Triglyzeride etc.).

1.4 Messung der Insulinresistenz

Die Messung der Insulinsensitivität im Rahmen von klinischen Studien kann über mehrere Methoden erfolgen.

1.4.1 Statische Tests / Modellierungen

Im Wesentlichen existieren zwei mathematische Modelle zur Bestimmung der Insulinresistenz aus nüchtern abgenommenen Blutwerten. Zum einen wäre das der **HOMA-R** (homeostasis model assessment) sowie der **QUICKI** (quantitative insulin sensitivity check index) (85-88).

$$\text{HOMA-R} = \frac{Gb \times Ib}{k}$$

$$\text{QUICKI} = \frac{1}{\log Gb + \log Ib}$$

Gb = basale Glukosekonzentration, Ib = basale Insulinkonzentration, k = Konstante (meist 1)

Da vor allem die Leber für die Aufrechterhaltung der Glukosehomöostase im Nüchternzustand verantwortlich ist, gibt diese Methode durch das Erfassen der Nüchternspiegel von Glukose und Insulin mehr die hepatische als die periphere Insulinresistenz an.

1.4.2 Dynamische Tests

Der **Insulinsuppressionstest (IST)** ist eine Methode um die Insulinresistenz zu messen. Hierbei wird die endogene Insulinproduktion durch die intravenöse Zufuhr von Insulin unterdrückt. Glukose wird ebenfalls exogen zugeführt. Somit sind die Insulinspiegel in allen Probanden gleich, lediglich die Glukosespiegel variieren. Je höher der Glukosespiegel im Gleichgewichtszustand („steady state“) desto insulinresistenter ist ein Proband. Jedoch sind auch bei dieser Methode einige Unsicherheiten zu bedenken. Zum Beispiel ist nicht sicher, ob die exogen zugeführte Dosis an Insulin auch in Probanden mit gestörter Glukosetoleranz oder Diabetes die EGP vollständig unterdrückt.

Durch andere dynamische Tests wie z.B. dem **intravenösen Glukosetoleranztest (ivGTT)** lassen sich ebenfalls Aussagen über die Insulinsensitivität oder Insulinsekretion machen. Hierbei wird eine definierte Menge Glukose als Bolus intravenös gegeben. Nach der so erreichten Blutglukosespitze fällt dieser in Abhängigkeit der Insulinsekretion und –wirkung wieder ab. Durch ein mathematisches Modell, dem „minimal model“, kann diese Beziehung beschrieben werden (89-92). Hieraus resultiert der Insulinsensitivitäts-Index, S_1 , der vor allem die periphere Insulinsensitivität repräsentiert (92).

Der **orale Glukosetoleranztest (OGTT)** ist ebenfalls ein dynamischer Test. Hier wird Glukose oral verabreicht, der Test macht vor allem eine Aussage über die periphere Insulinsensitivität. Allerdings wird der Test durch die Resorptionsgeschwindigkeit der

Glukose aus dem Darm, der unterschiedlichen Freisetzung und Wirkung der Inkretine auf die Insulinfreisetzung und die hepatische Insulinsensitivität beeinflusst. Auch hier gibt es mehrere Ansätze die Insulinsensitivität zu berechnen: ISI_{comp} , MCR_{est} , OGIS. Diese Formeln beruhen auf empirischen Annahmen, da die Rate der Glukoseaufnahme nicht direkt gemessen werden kann. Der OGTT ist ein einfacher und schnell durchzuführender Test, nicht nur zur Diagnose des Diabetes, sondern auch zur Abschätzung der Insulinwirkung.

Beim **Insulin-Toleranz-Test (ITT)** wird die Insulinsensitivität über den Abfall der Blutglukose nach einer exogenen Gabe von Insulin determiniert (93). Dieser Test ist eine einfache Methode zur Quantifizierung der Insulinsensitivität und kann in insulinresistenten oder Probanden mit Diabetes gut angewendet werden. Bei gesunden Probanden ist jedoch mit einer symptomatischen Hypoglykämie zu rechnen, daher ist ggf. eine Modifizierung der Insulindosis vorzunehmen.

1.4.3 Glukose-Clamp-Techniken

Der Goldstandard der in vivo-Messung der Insulinsensitivität ist die Glukose-Clamp-Technik. Die Glukose-Clamp-Technik wurde erstmals von Andres et al 1966 vorgestellt (94) und greift in den physiologischen Kreislauf zwischen Plasmaglukosekonzentration und Insulinsekretion ein. Diese Testmethode hat eine hohe Reproduzierbarkeit und eine ausgesprochene Flexibilität des Prüfprotokolls, die die Bestimmung der Insulinwirkung auf den Glukosestoffwechsel unter unterschiedlichen, definierten metabolischen Konditionen unabhängig von der körpereigenen Insulinfreisetzung ermöglicht (95).

Für die vorliegenden Studie wurde der hyperinsulinämische – euglykämische Clamp gewählt. Im normalen Stoffwechsel wird die Euglykämie durch die endogene Produktion von Glukose bzw. der exogenen Zufuhr von Glukose kontrolliert durch Insulin aufrechterhalten. Im Rahmen des Testverfahrens wird sowohl Insulin als auch Glukose exogen zugeführt. Dadurch wird die endogene Produktion herabgesetzt und der Verbrauch gesteigert bis nach einiger Zeit ein Gleichgewicht erreicht wird. Innerhalb dieses Gleichgewichts zeigt die Glukoseinfusionsrate die Fähigkeit von Insulin die

Glukoseaufnahme zu stimulieren an. Dies entspricht der Insulinsensitivität (95). Die weiteren Hintergründe und Methodik werden im Folgenden ausführlich besprochen.

Im Rahmen der Studien wurde die Begriffe Insulinsensitivität, Insulinempfindlichkeit und Insulinresistenz wie folgt definiert. Vor allem Kahn hat in seinen in vitro Experimenten die biologischen Effekte auf unterschiedliche Insulinkonzentrationen untersucht und dabei diese Begriffe geprägt (96). Die Konzentrations-Wirkungs-Kurve ist annäherungsweise sigmoidal und kann mit der Michaelis-Menten-Kinetik (Sättigungskinetik von Enzymen) verglichen werden. Als Insulinsensitivität wird nach Kahn (96) die Insulinkonzentration in einem Medium bezeichnet, bei der sich die Hälfte der maximalen biologischen Insulinantwort findet (EC_{50}). Als Insulinempfindlichkeit wird die Konzentration definiert bei der die maximale biologische Insulinantwort resultiert (V_{max}). Die Insulinresistenz kann durch zwei Ursachen bedingt werden. Zum einen durch eine herabgesetzte Insulinsensitivität, und zum anderen durch eine erniedrigte maximale Antwort auf Insulin (reduzierte Insulinempfindlichkeit). Beide Störungen können auch kombiniert auftreten (96-98).

Die Insulinsensitivität wird bei dieser Testmethode meist als sogenannter M-Wert angegeben. Der M-Wert bezeichnet die Rate der Glukoseaufnahme des gesamten Körpers bei definierten Insulin- und Glukosespiegeln im Gleichgewichtszustand des Clamps.

Das 95%-Konfidenzintervall des M-Wertes liegt in gesunden Kollektiven bei 4,7-8,7 $mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$, so dass eine Insulinresistenz durch M-Werte $<4,7 \text{ } mg \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ definiert werden kann (99).

1.4.3.1 Prinzipien des Clamps

Durch die exogene konstante Zuführung von Insulin wird die körpereigene Produktion von Glukose reduziert und die Glukoseaufnahme erhöht. Um die Blutglukose auf einem bestimmten (euglykämischen) Niveau stabil zu halten, wird exogen Glukose in variabler Dosierung gemäß des aktuellen Blutglukosespiegels zugeführt, bis sich ein Fließgleichgewicht einstellt. Damit ist die Rate der Glukoseinfusion während konstanter Blutglukosespiegel und konstanter Hyperinsulinämie ein Maß für die Insulinwirkung. In

der Annahme dass die körpereigene Glukoseproduktion komplett gedrosselt oder zumindest relevant reduziert ist, zeigt die Glukoseinfusionsrate (GIR) den Verbrauch an. Je höher die GIR, desto höher ist auch die Aufnahme von Glukose in die Gewebe und damit einhergehend die Insulinsensitivität. Bei Gesunden, Schlanken und Glukosetoleranten kann unter Hyperinsulinämie die endogene Produktion von Glukose als Null angesehen werden. Andernfalls muss diese gemessen werden, z.B. mittels markierter Glukose (100). Der Verbrauch der Glukose ist im Rahmen des Clamps maßgeblich durch den Skelettmuskel bestimmt, der Beitrag der Leber nur gering. Der M-Wert berechnet sich aus der Menge der Glukoseinfusion im Fließgleichgewicht abzüglich des Verlustes der Glukose aus dem Glukosepool über den Harn (bei Blutglukosewerten unterhalb der Harnschwelle vernachlässigbar klein) und korrigiert für einen linearen Anstieg oder Abfall der Glukosekonzentration im Pool (sogenannte Space correction):

$$M = GIR - (SC - UL)$$

UL = Urinary loss (=0), SC = space correction (=0), GIR = glucose infusion rate (mg/kg*min)

Die Kalkulation des M-Wertes erfolgt über einen Zeitraum von 20 - 30 Minuten und dabei am besten nach einer Dauer von mindestens 60 Minuten (besser 120 Minuten) der Clamp-Untersuchung. Dieser Zeitabschnitt soll die geringste intraindividuelle Variation bei gleichzeitig stabiler Anreicherung der Insulinspiegel aufweisen (101). Der M-Wert wird normalisiert für die fettfreie Masse angegeben (lean body weight), da somit die geschlechterspezifischen Unterschiede in der Verteilung der Fettmasse berücksichtigt werden. Eine Normalisierung des M-Werts auf Körpergewicht führt zur Unterschätzung der Insulinsensitivität bei Adipositas (101).

1.5 Mechanismen der Entstehung der Insulinresistenz

Ungefähr 70-80% der mit der Nahrung aufgenommenen Glukose werden im Skelettmuskel entweder als Glykogen gespeichert oder zur Energiegewinnung oxidiert. Im Ruhezustand wird die Energienachfrage fast ausschließlich durch die Fettoxidation gedeckt (102). Bei bestehender Insulinresistenz (z.B. im Rahmen der Adipositas oder Typ 2 Diabetes) finden sich erhöhte Spiegel an freien Fettsäuren im Blut. Erste Annahmen vermuteten eine direkte Interaktion im Sinne einer Substratkompetition an der Muskelzelle

(Randle-Zyklus, siehe weiter unten), so dass eine Hemmung des Glukosestoffwechsels stattfindet (103, 104). Neuere Forschungsergebnisse zeigen jedoch, dass es sich hierbei um einen multifaktoriellen Prozess handelt (76, 105). Erhöhte Spiegel an freien Fettsäuren im Blut führen zu einem intrazellulären Anstieg der freien Fettsäuren, die nicht ausreichend oxidiert werden können. Dies führt im Weiteren zur Akkumulation der Metabolite (Diacylglycerole, Ceramide) und Speicherung als intramyozelluläre Lipide (IMCL), von denen eine Beteiligung an der Entstehung der Insulinresistenz nachgewiesen ist (106). Zudem spielen Veränderungen der Mitochondrien, die für die Oxidation der Fettsäuren verantwortlich sind, ebenfalls eine Rolle (107, 108).

1.5.1 Einfluss der freien Fettsäuren auf den Muskel

Randle vermutete, dass freie Fettsäuren mit Glukose um die Substratoxidation in den Mitochondrien konkurrieren und so durch eine Erhöhung der AcetylCoA/CoA und NADH/NAD⁺ Quotienten zu einer Hemmung der Pyruvatdehydrogenase führen. Dies hätte zur Folge, dass über eine intrazelluläre Akkumulation von Glukose-6-Phosphat die Glukoseaufnahme in die Zelle gehemmt wird (103).

Neuere Arbeiten widersprechen jedoch dem sogenannten Randle-Zyklus, indem sie verringerte Spiegel des Glukose-6-Phosphat in der Zelle zeigten, was somit einen primären Angriffspunkt der FFA auf Ebene des Glukosetransports bzw. der Phosphorylierung der Glukose nahe legt (77, 109, 110). Die Glukoseaufnahme in die Muskelzelle wird bei hohen Spiegeln freier Fettsäuren um ca. 95% gehemmt (111). Zudem wird die Glykogensynthese durch die Fettsäuren vermindert, so dass es zu verminderten intrazellulären Konzentrationen von Glukose-6-Phosphat kommt (109, 110). Eine kombinierte Lipid-Heparin-Infusion reduzierte die Glukoseoxidation und Glykogensynthese ebenso wie die Glukose-6-Phosphat-Konzentration intrazellulär um 90%.

Bei einem erhöhten Angebot an freien Fettsäuren im Rahmen einer bestehenden Adipositas oder Typ 2 Diabetes reagiert die Muskelzelle mit einer Erhöhung der Plasma-Transportproteine (FAT/CD36, FABPpm und FATP1-6), so dass es zur vermehrten Aufnahme von freien Fettsäuren und damit einhergehender intramyozellulärer Akkumulation von Lipiden (IMCL) kommt (76, 78, 112). Die vermehrte Speicherung von

IMCL ist jedoch nicht als absoluter Marker für die Insulinresistenz zu sehen. Studien mit gut trainierten Athleten zeigten, dass diese ebenfalls einen erhöhten Gehalt an IMCL aufwiesen, die jedoch nicht mit einer Reduktion der Insulinsensitivität einhergingen (113). Eine größere Rolle bei der Entstehung der Insulinresistenz nehmen dabei die Metaboliten wie z.B. LCCoA und DAG ein (78, 105, 114).

Die Wirkung von Insulin läuft rezeptorvermittelt über einen spezifischen Plasmamembranrezeptor mit Tyrosinkinaseaktivität. Nach Bindung von Insulin an den Rezeptor verläuft die Signalkaskade über eine mehrfache Phosphorylierung der Tyrosinreste der intrazellulären Proteine (IRS, **Abbildung 1**). Andere zelluläre Substrate können ebenfalls über die Tyrosinkinase phosphoryliert werden und somit zu einer veränderten Signalkaskade führen. PTP1B (Phosphotyrosinphosphatase 1B) hemmt z.B. den Rezeptor über Tyrosindephosphorylierung. Vor allem DAG wird für das Auslösen der Signalkaskade der Serin-/Theroninkinase über Proteinkinase C (PKC)-Isoformen und der damit verbundenen Serin-Phosphorylierung der IRS-1 verantwortlich gemacht (115). Damit werden die Tyrosinphosphorylierung der IRS-1 und nachfolgend die Aktivierung der PI3-Kinase gehemmt, das wiederum zur Reduktion des Glukosetransports in die Zelle und der Glykogensynthese führt.

Auf der anderen Seite führt die Aktivierung von Toll-like Rezeptoren (TLR) zu einem Anstieg einer weiteren Klasse von intrazellulären intermediären Lipidprodukten, den Ceramiden (116, 117). Die TLR-Rezeptoren können sowohl durch LPS, aber auch insbesondere durch gesättigte FFA (z.B. Palmitinsäure, aber nicht Ölsäure) angesprochen werden (118). Der Anstieg der Ceramide führt über die Reduktion der Akt-Aktivität, die vermutlich durch eine inhibierende Dephosphorylierung von Akt durch die Protein-Phosphatase 2A zustande kommt, zu einer verminderten Insulinsensitivität (116, 117, 119, 120). Darüber hinaus können Ceramide die Insulinrezeptorsignalkaskade durch die atypische PKC-Isoform ζ beeinträchtigen, indem die Aktivierung von Akt durch Phosphorylierung inhibiert wird (121).

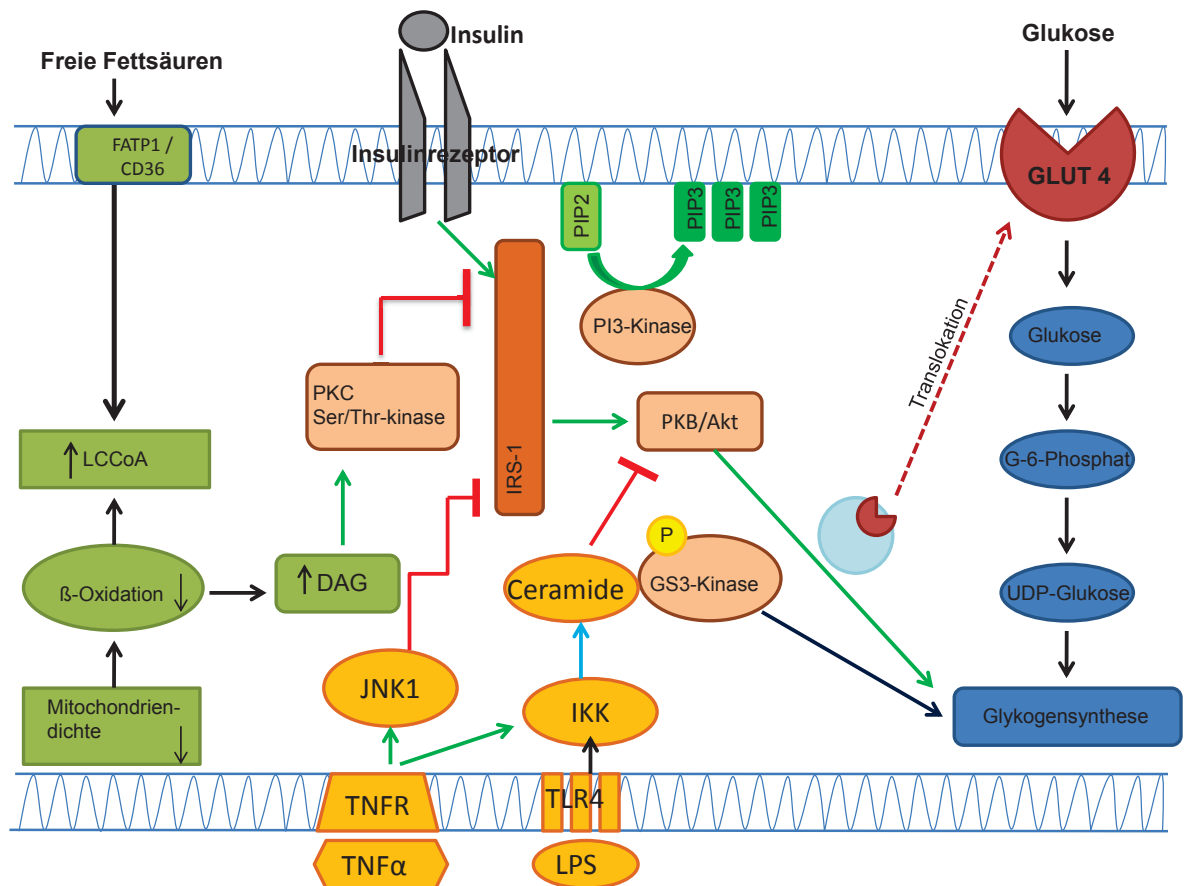


Abbildung 1 Schematische Signaltransduktion von Insulin in der Muskelzelle

FATP fatty acid transporter protein, LCCoA long-chain Acylcoenzym A, DAG Diacylglycerol, PKC Proteinkinase C (Serin-Threoninkinase), IRS Insulin-Rezeptor Substrat, PIP Phosphatidylinositol, GLUT Glukosetransporter, Akt/PKB Proteinkinase B, LPS Lipopolysaccharid, TLR Toll-like Rezeptor, IKK IkappaB kinase

Zusätzlich werden auch proinflammatorische intrazelluläre Signalkaskaden (IKK/NFκB, MAPK, JNK) durch die TLR-Bindung aktiviert. FFA können außerdem über eine Aktivierung der PKC und damit folgende Aktivierung der NAD(P)H-Oxidase und Induktion von DAG-Produktion zu Stress im endoplasmatischen Retikulum führen. Dies beeinflusst nicht nur die Insulinsignalkaskade, sondern kann ebenfalls zu einer Aktivierung von proinflammatorischen Genen über die Aktivierung von NFκB, AP-1 oder c-AMP führen (51, 122). Des Weiteren führt auch eine Bindung von TNF-alpha (TNF-α), das vor allem durch Makrophagen im Fettgewebe bei zunehmendem Übergewicht sezerniert wird (123, 124), einerseits zur Aktivierung des JNK-Signalweges, andererseits zu einer Aktivierung des IKK-Weges (76).

Zuletzt ist auch die Mitochondrienfunktion bei Insulinresistenz beeinträchtigt, dies zeigt sich in einer verminderten Lipidoxidation der Muskelzelle trotz der erhöhten Aufnahmerate von FFA, was wiederum zur Verstärkung der Lipidakkumulation führt. Ursächlich für die reduzierte Oxidationsfähigkeit zeigten sich in einigen Studien eine Verminderung der Mitochondriendichte sowie der Nachweis von kleineren Mitochondrien bei Adipösen und Patienten mit Typ 2 Diabetes. Dabei ist die Mitochondriendichte positiv mit der Insulinsensitivität korreliert. Zudem zeigten sich viele Mitochondrien „zerstört“, was eine erhöhte Apoptoserate vermuten lässt (54, 125, 126). Eine Lipidinfusion oder Hochfettdiät führt selbst bei Gesunden zu einer reduzierten ATP-Synthese und mitochondrialen oxidativen Phosphorylierung (107, 115, 127). Auch in-vitro-Untersuchungen mit kultivierten Skelettmuskelzellen zeigen eine gesteigerte Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), gestörte Fettsäureoxidation und eine reduzierte Expression von PGC-1 sowie eine reduzierte ATP-Synthese (128-130).

1.5.2 Einfluss der Fettsäuren an der Leber

Im Rahmen eines bestehenden Übergewichtes kommt es ebenfalls zur Akkumulation von FFA in der Leber. Diese ektope Speicherung von FFA wird als nichtalkoholische Fettleber (NAFL) bezeichnet und ist im Rahmen des Typ 2 Diabetes sehr häufig zu finden (76). Zudem findet sich bei diesen Patienten eine Vermehrung des viszeralen Fettgewebes. Einige Studien zur hepatischen Insulinresistenz konnten belegen, dass die ektope Speicherung von Fett in der Leber die Insulinsensitivität mehr beeinflusst als die Vermehrung des viszeralen Fettgewebes.

Im Serum zirkulierende Triglyzeride werden durch die Lipoproteinlipase (LPL) zu freien Fettsäuren hydrolysiert, die dann über Plasma-Transportproteine (FATPs/CD36; **Abbildung 2**) in die Leberzelle aufgenommen werden können. In einigen Studien konnte beobachtet werden, dass eine Überexpression von LPL oder der spezifischen Transportproteine zur Akkumulation von Fettsäuren in der Leber und damit einhergehender hepatischer Insulinresistenz führen können (76). Apolipoprotein C3 (ApoC3) hemmt die Aktivität von LPL. In einer Tiermodell-Studie mit Mäusen, die ApoC3 überexprimieren, konnte gezeigt werden, dass nach einer Hochfettmahlzeit die

Mäuse eine hepatische Steatose mit Insulinresistenz entwickelten. Zudem konnte in Rahmen dieser Studie nachgewiesen werden, dass diese Mäuse eine verminderte Ausfuhr von Fettsäuren (vermittelt über Apolipoprotein B100) aufwiesen. Dieses Missverhältnis zwischen hepatischer Aufnahme und Abgabe von Fettsäuren führt zu einer verminderten hepatischer Insulinsensitivität (76).

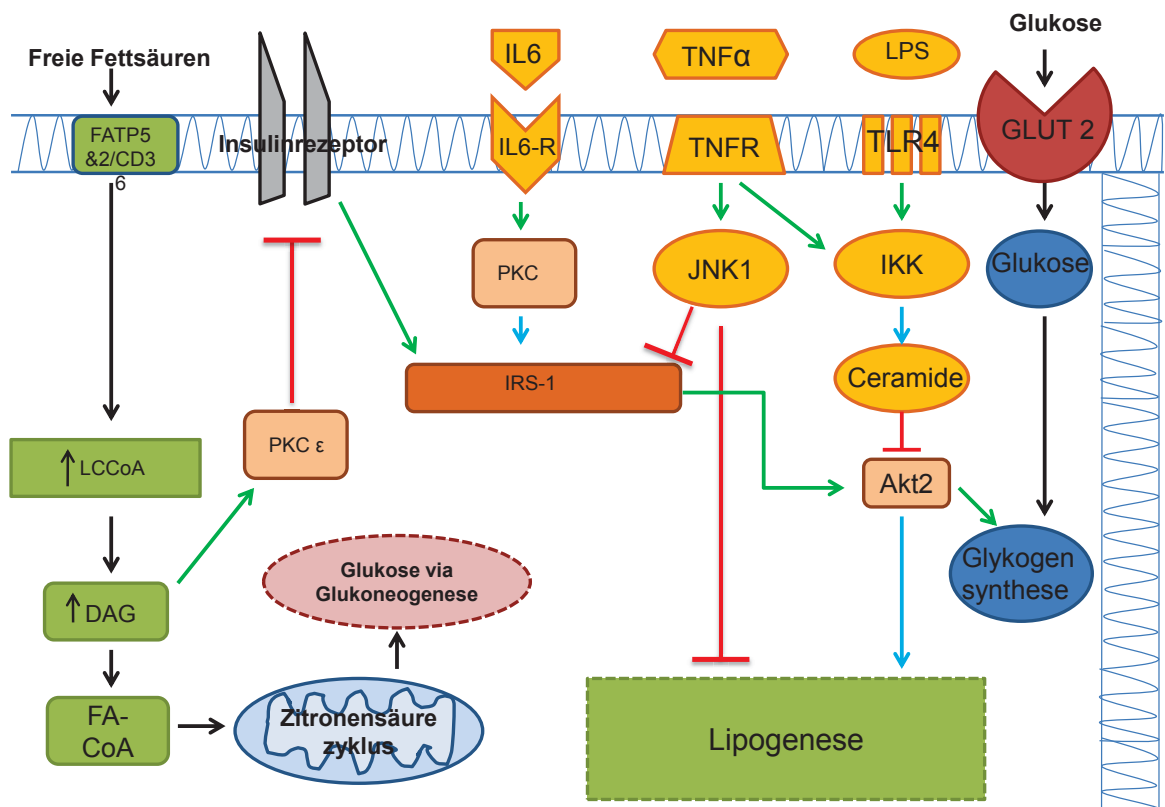


Abbildung 2 Schematische Signaltransduktion von Insulin in der Leberzelle

FATP fatty acid transporter protein, LCCoA long-chain Acylcoenzym A, DAG Diacylglycerol, PKC Proteinkinase C (Serin-Threoninkinase), IRS Insulin-Rezeptor Substrat, PIP Phosphatidylinositol, GLUT Glukosetransporter, PKB Proteinkinase B, FA-CoA fatty acid Acylcoenzym A, LPS Lipopolysaccharid, TLR Toll like Rezeptor, IKK IκB kinase

Ähnlich wie im Muskel führen die erhöhten intrazellulären Spiegel von FFA zu einem Anstieg von LCCoA und DAG mit nachfolgender Aktivierung der PKCε und Beeinträchtigung der Insulinrezeptorsignalkaskade (76). Außerdem wurde nach Lipidinfusion im Tiermodell eine Aktivierung einer weiteren neuen PKC-Isoform in der Leber, der PKC-δ, beobachtet. Diese Aktivierung tritt interessanterweise parallel zu einer

Aktivierung des IKK-Signalweges auf und könnte das proinflammatorische Milieu bei Hyperlipidämie widerspiegeln (76, 131). Dies führt ähnlich wie beim Muskel zu einer Inhibierung der Insulinrezeptorsignalkaskade und damit einer hepatischen Insulinresistenz. Zudem führt eine Akkumulation von Ceramiden durch eine Aktivierung von TLR, entweder durch gesteigerte Spiegel insbesondere von gesättigten Fettsäuren oder durch proinflammatorische Mediatoren, über die Inhibierung der Akt-Aktivität zu einer gesteigerten hepatischen Glukoneogenese (132) sowie einer reduzierten insulin-vermittelten Glykogensynthese, was zu einer gesteigerten hepatischen Glukoseproduktion führt (76).

1.5.3 Inflammation, Lipidstoffwechsel und Insulinresistenz

Viele Risikofaktoren, die mit dem Lebensstil assoziiert sind, führen nachweislich zu einer lokalen oder systemischen subklinischen chronischen Entzündungsreaktion. Dazu zählen vor allem Übergewicht, geringe Aufnahme von Ballaststoffen, Bewegungsmangel, Schlafstörungen und Depression. Dabei führt eine subklinische Entzündung nicht zwangsläufig zu einem Typ 2 Diabetes, sondern erst bei Vorhandensein einer genetischen Prädisposition (133, 134).

In Studien konnte gezeigt werden, dass eine hochkalorische fettreiche Mahlzeit im Gegensatz zu einer ballaststoffreichen und fettarmen Mahlzeit zu einem Anstieg von Lipopolysaccharid (LPS), TLR2 und TLR4 und damit zu einer subklinischen Inflammation führt (118, 135, 136).

In *in-vitro*-Studien konnte nachgewiesen werden, dass nach einer Glukosebelastung von Endothelzellen und mononuklearen Zellen die Expression von entzündungsassoziierten Genen (z.B. für IL-6 / IL-8) erhöht war (137).

Die Produktion der proinflammatorischen Marker läuft über die Aktivierung der mitogen activated Kinase p38, JNK und andere Tyrosinkinase sowie Transkriptionsfaktoren (z.B. AP-1, NFκB). Zudem konnte nach einem Standard-OGTT mehr als ein doppelter Anstieg der Produktion freier Radikale in Leukozyten gefunden werden (138). Auch können hohe Glukosekonzentrationen *in vitro* zu einer erhöhten Expression von TLR4 führen (139).

Lipopolysaccharid (LPS) ist ein bakterielles Endotoxin, das zur physiologischen Darmflora des Menschen gehört (140). In Gesunden zirkuliert LPS in sehr geringen Konzentrationen im Blut (ca. 1-200pg/ml,(141)), im Darm sind die Spiegel deutlich höher (bis zu 1g). Infolge von erhöhter Darmpermeabilität (z.B. im Rahmen von entzündlichen Darmerkrankungen oder nach fettreicher Mahlzeit) gelangt LPS jedoch in die Blutbahn und kann dort eine Immunaktivierung in Leukozyten, Endothelzellen und anderen Geweben auslösen (142).

Im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass über gesättigte freie Fettsäuren eine Interaktion mit dem membranständigen LPS-Rezeptor TLR4 in Makrophagen und Adipozyten stattfindet und dies eine Aktivierung von NFκB als zentralem Regulator der Immunantwort zur Folge hat. Dadurch werden proinflammatorische Signaltransduktionskaskaden ausgelöst, die zu einer Beeinträchtigung der Insulinrezeptor-Signalübertragung führen können (118, 143). Im Gegensatz dazu zeigte sich bei Mäusen mit einer TLR4-Mutation, die die Rezeptorfunktion beeinträchtigt, dass diese vor einer durch eine Hochfettmahlzeit ausgelösten Insulinresistenz in Muskel- und Fettgewebe geschützt sind (144). Dies legt nahe, dass eine Interaktion von freien Fettsäuren und TLR4 eine notwendige Bedingung für die Induktion der Insulinresistenz sein könnte.

TLR4 ist beinahe auf allen humanen Zellen exprimiert und damit von besonderer Bedeutung. Gemeinsam mit CD14 und anderen Proteinen bildet es einen Rezeptorkomplex, der über unterschiedliche endogene und exogenen Liganden eine systemische Immunreaktion auslösen kann (145, 146). Ein wichtiger exogener Ligand ist das LPS.

Auch beim Menschen zeigen sich nach fettreicher Mahlzeit nachweislich erhöhte LPS-Spiegel im Blut (147), die mit erhöhten Insulinspiegeln und Entwicklung eines Typ 2 Diabetes assoziiert sind. Ghanim et al (135) konnten in einer Studie an gesunden Probanden zeigen, dass nach einer hochkalorischen fettreichen Mahlzeit ein Anstieg von TLR2, TLR4, LPS und LPS-binding protein (LBP) im Serum gefunden werden konnte. Dies führte zu einem Anstieg von reaktiven Sauerstoffspezies im Blut sowie der Bindungsaktivität von NFκB als zentralem inflammatorischen Transkriptionsfaktor. Somit

könnte der kumulative Effekt solcher fettreichen Mahlzeiten nicht nur in chronischem oxidativem Stress und einer Entzündungsreaktion resultieren, sondern langfristig auch zu Insulinresistenz und damit schließlich zur Entwicklung eines Typ 2 Diabetes führen. Dieser Effekt war nach ballaststoffreichen Mahlzeiten im Rahmen dieser Studie nicht nachzuweisen.

In anderen Studien (148) fanden sich nach niedrigdosierter intravenöser Gabe von LPS eine Erhöhung der systemischen Spiegel von TNF α oder IL-6, die mit Insulinresistenz und einem erhöhten Risiko für Typ 2 Diabetes verbunden sind (55, 133, 149).

2 ZIELE DER ARBEIT

Durch eine Reihe von humanen Studien konnte gezeigt werden, dass die intravenöse Gabe von freien Fettsäuren schon bei Gesunden eine Insulinresistenz induzieren kann (Tabelle 2, (78, 110, 150). Andererseits erhöht eine fettreiche Mahlzeit im Menschen auch die LPS-Konzentration und nachfolgend proinflammatorische Immunmarker in der Zirkulation (136, 147, 151). Beide, erhöhte LPS-Spiegel und Immunmarker, sind mit erhöhten Insulinspiegeln und Typ 2 Diabetes assoziiert und können interagieren (136, 152). Bislang ist jedoch nicht hinreichend untersucht, ob nach einer fettreichen Mahlzeit ein Anstieg der FFA oder eine Immunaktivierung für die Insulinresistenz verantwortlich sind. Des Weiteren sind die zeitliche Abfolge und die beteiligten Mediatoren beider möglicher Mechanismen unklar.

Daher ist die Hypothese dieser Arbeit, dass die durch eine fettreiche Mahlzeit induzierten Insulinresistenz sowohl über eine Erhöhung der FFA-Spiegel als auch über eine Immunaktivierung durch LPS-Translokation aus dem Darm hervorgerufen wird und beide Mechanismen interagieren.

Daher soll die Arbeit folgende Ziele erreichen:

1) Vergleich der Insulinresistenz induziert durch eine orale Fettbelastung zur parenteralen Gabe von Lipiden

Es soll geklärt werden, ob eine orale Fettbelastung die Gesamtkörper- und hepatische Insulinresistenz vergleichbar zu einer parenteralen Gabe von Fett beeinflussen kann.

2) Untersuchung der Effekte einer durch niedrig-dosierte LPS-Infusion induzierten Insulinresistenz als Simulation der postprandialen LPS-Translokation in die Zirkulation

Es soll herausgefunden werden, ob eine intravenöse Gabe von LPS als Simulation der Translokation von LPS nach fettreicher Mahlzeit zu einem Anstieg der zirkulierenden Immunmarker führt und eine vergleichbare Insulinresistenz wie eine orale Fettbelastung auslöst.

3) Abhängigkeit der durch orale Fettbelastung induzierten Insulinresistenz vom Anstieg der FFA und zirkulierenden Inflammationsmarker

Es soll geklärt werden, ob sowohl ein Anstieg der FFA als auch von systemischen Inflammationsmarkern nach einer oralen Fettbelastung auftreten, in welcher zeitlicher Sequenz diese zu beobachten sind und ob die Höhe der Reaktion mit dem Ausmaß der Insulinresistenz korreliert.

Probanden	Intervention	Insulinsensitivität (Methode)	Ergebnisse	Referenz
Gesunde Männer	Lipid iv vs. NaCl iv	- (HEC)	FFA +, Lactat +, Alanin <->, GOX +, LOX <->, PDH -, GS-Aktivität -	Kelley et al 1993 (102)
Gesunde Frauen / Männer	Lipid / Heparin iv vs. Glycerol iv	- (HEC)	Muskelglykogen +, G-6-Phosphat intramuskulär -, FFA +, TG +, Glycerol +	Roden et al 1996 (110)
Gesunde Männer	Lipid / Heparin iv	- (HEC)	PKC β II +, PKCdelta +, Ikb α -, DAG +, CER <->	Itani et al 2002 (78)
Gesunde Männer	Lipid iv vs. NaCl iv	- (ECP low-dose Insulin)	ATPase <->, G6P -, IMCL <->, FFA +, TG +	Brehm et al 2010 (108)
Gesunde Frauen / Männer	Lipid iv vs. NaCl	- (HEC)	PI3K <->, AktPx <->, TAG <->, DAG <->, CER <->	Hoeg et al 2011 (150)
Gesunde Frauen / Männer	Lipid iv vs. Sojaöl oral vs Glycerol iv vs LPS iv	- (iv, oral, LPS) (HEC)	PKC theta (iv, oral) +, PKC theta (LPS) +, total DAG +, CER <->	Nowotny et al 2013 (153)
Gesunde Frauen / Männer	Lipid iv	- (HEC)	DAG +, PKCtheta +, pIRS1-Ser1101-Px +, AktPx -, PI3K-Px -, CER <->	Szendroedi et al 2014 (105)

Tabelle 2 Übersicht von ausgewählten humanen Interventionsstudien zur fettinduzierten Insulinresistenz

Zusammengefasst sind die Ergebnisse von bis Oktober 2015 veröffentlichten Studien zu den **zugrundeliegenden Mechanismen** einer durch Fettinfusion induzierten Insulinresistenz, gemessen durch hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp, am Menschen; - reduziert, + erhöht, <-> unverändert, DAG Diacylglycerol, CER Ceramide, PDH Pyruvatdehydrogenase, GS Glykogensynthase, HEC Hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp, ECP euglykämischer Pankreatischer Clamp (weitere Abkürzungen siehe Abkürzungsverzeichnis)

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Verwendete Infusions- und Nährlösungen

3.1.1 Orale Fettemulsion

Sojaöl (Fa. Resana Dr. H. Lang KG, PZN 3034235) (Zusammensetzung siehe Anlage)

3.1.2 Parenterale Fettinfusion und andere Infusionen

Lipovenös 20% LCT (Fa. Fresenius Kabi AG) (Fachinformation siehe Anlage)

3.1.3 LPS-Infusion

National Reference Bacterial Endotoxin (USPC, Rockville, USA) (Zertifikat siehe Anlage)

3.1.4 Glyzerol-Infusion

Die Stammlösung mit Glyzerol wurde durch eine beauftragte Apotheke steril hergestellt (Fachinformation siehe Anlage).

3.1.5 Kochsalzlösung

Des Weiteren verwendeten wir zur Flüssigkeitssubstitution über den gesamten Zeitraum der Untersuchung isotonische Kochsalzlösung NaCl 0,9% (Fresenius Kabi, Fachinformation Anlage). Dabei erhielten die Probanden über den Zeitraum eines Untersuchungstages 1000-1250ml. Auf der linken Armseite wurde die Kochsalzlösung als freie Infusion mit einer Gesamtmenge von ungefähr 500ml über den Untersuchungszeitraum infundiert. Auf der rechten Armseite wurde die Kochsalzinfusion über einen Infusomaten mit je nach Untersuchungstag unterschiedlicher Geschwindigkeit intravenös appliziert, jedoch insgesamt immer 500ml.

3.1.6 Insulinlösung

Zur Anreicherung der Insulinspiegel im euglykämischen hyperinsulinämischen Clamp wurde eine Insulininfusionslösung mit 1IU/ml (Insuman Rapid®, Sanofi-aventis Deutschland GmbH, Frankfurt, Deutschland, Fachinformation Anlage) hergestellt. Dazu

wurden 48,8 ml 0,9% NaCl in einer Perfusorspritze aufgezogen und mit 50 IU Insulin (1,25 ml) gründlich durchmischt.

3.1.7 Glukoselösungen

D2-Infusionslösung in NaCl („D2INF“)

Für die konstante Anreicherung von deuterierter Glukose (sog. schwere, nicht radioaktive Glukose, d2-Glukose [6,6 $^2\text{H}_2$ -Glukose; Cambridge Isotope Laboratories, Andover, MA, USA; 99 % Anreicherung]) im Plasma wurde aus der Stammlösung mit 40% d2-Glukose in Aqua dest. ein Infusionslösung mit 0,4% d2-Glukose in 0,9% NaCl-Lösung hergestellt und eine Infusatprobe zur Bestimmung des d2-Glukosegehaltes versorgt.

20%ige Glukoselösung mit d2-Glukose („HG20“)

Für die Aufrechterhaltung der stabilen Anreicherung der d2-Glukose im Plasma während des Clamps wurde die 20%ige Glukoselösung (Fresenius Kabi, Fachinformation) mit 2% d2-Glukose angereichert. Dazu wurden 10 ml 20%ige Glukoselösung aus einer 500 ml-Flasche entnommen und verworfen. Anschließend wurden 5 ml der 40%igen d2-Glukose-Stammlösung und 5 ml 0,9% NaCl-Lösung hinzugegeben, die Infusionslösung sorgfältig vermischt und eine Infusatprobe zur Bestimmung des d2-Glukosegehaltes asserviert.

3.2 Verbrauchsmaterialien und Geräte

3.2.1 Verbrauchsmaterialien

- Venenverweilkanülen (Optiva® 2 I.V. Catheter radiopaque 20G, REF 1020, Smiths medical, Lancashire, UK)
- Serumröhrchen (BD Vacutainer SST™II Advance Plus Collection Blood Tubes, REF 367955, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Monozytenröhrchen (BD Vacutainer® CPT™, NC:1ml / FICOLL™, REF 362782, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Blutbildröhrchen (BD Vacutainer® K2E 5,4mg, Plus Blood Collection Tubes, REF 368499, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)

- RNA-Röhrchen (PAXgene ® Blood RNA tube, PreAnalytix, REF 762165, Hombrechtikon, Schweiz)
- BD Vacutainer ® Multi sample Luer Adapter (REF 367300, BD Belliver Industrial Estate, Plymouth, UK)
- Spritzen 1/2/5/10 ml (Injekt ® Luer Solo, Fa. Braun Melsungen AG, Melsungen Deutschland, REF 1ml 9166017V, REF 2ml 4606027V, REF 5ml 4606051V, REF 10ml 4606108V)
- Vacutainer™ Urine Transfer Straw (REF 364940, BD Vacutainer Systems Preamalytik Solutions, Franklin Lakes, USA)
- Pflaster Venenverweilkanüle (APPLICA I.V., REF 66047717 Smith & Nephew Medical, Hull, England)
- 2ml Eppendorfgeläße mit Glukose-/Laktat-Hämolyselösung, REF 0209-0100-012, EKF Diagnostik GmbH, Barleben/Magdeburg, Deutschland)
- 20 µl-Kapillare (20 µl, Natrium-heparinisiert, EKF Diagnostik GmbH, Barleben/Magdeburg, Deutschland)
- Handschuhe (MaiMed®-sensitiv, REF 74185, Maimed GmbH & Co KG, Neuenkirchen, Deutschland)
- Zelluloseupfer (Maicell® 4x5cm, REF 72100, MaiMed® Medical, Maimed GmbH & Co KG, Neuenkirchen, Deutschland)
- Desinfektionsspray (Cutasept ® F, REF 976802, Bode Chemie Hamburg, Deutschland)
- Kanülenabwurf (Multisave, Sarstedt, Nürmbrecht, Deutschland)
- Krankeneinmalunterlagen (NOBA ® Ribocare, REF 60x90cm 008206, REF 40x60cm 008006, NOBA Verbandmittel Danz GmbH & Co KG, Wetter, Deutschland)
- Blutlanzetten (Kendall, Monoject, Monolet Blood Lancets, REF; 602018, tyco/healthcare, Gosport, UK)
- Händedesinfektionsmittel (Manusept ® basic, REF 975612, Bode Chemie Hamburg, Deutschland)

- Drei-Wege-Hähne (3-way-stopcock ®, Fresenius Kabi AG, REF 8501722, Bad Homburg, Deutschland)
- Verschluss Drei-Wege-Hahn (Combi Stopper ®, REF 4495101, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Insulinspritzen (BD Microfine™ 1ml, U40 Insulin, REF 324803, BD Consumer Healthcare Europe, Le Pont de Claix, Frankreich)
- Pflasterrolle (Leukofix ®, 2,5cmx9,2m, REF 46834-00, BSN Medica GmbH, Hamburg, Deutschland)
- EKG-Elektroden (Ambu®, Blue Sensor UL, single patient use ECG electrodes, REF VL-00-5/25, Ambu A/S, Bellerup, Dänemark)
- Infusionsbesteck (Infudrop ®, REF 2886312, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg, Deutschland)
- Infusomatleitung (Original Infusomat ® -Leitung, REF 8700036T, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Perfusorleitung (Original Perfusor ® -Leitung, REF 872269/0, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Perfusorspritze (Original Perfusor ® Spritze OPS, 50ml Luer Lock, REF 8728810F, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Kryotubes für Blutentnahme (Cryovial® 3,0ml, frei stehend, steril, Art.Nr.710504, Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, Deutschland)
- ACCU-Check Dextro® O.G.-T. (Roche, Roche Diagnostik Mannheim, Deutschland)
- Zeitmesser (Timer Series 60', Carl Roth GmbH & Co, Karlsruhe, Deutschland)
- Einmal-Rasierer
- Thermometerhülsen (Alaris®TriSite, TurboTemp®, Temp.Plus®II Thermometer, REF 850A Cardinal Health, San diego, CA, USA)
- Multiply® Pro Gefäß, 0,5ml (PP, REF 72735002, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland)
- Multiply® Pro Gefäß, 0,2ml (PP, REF 72737002, Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland)

- Quantikine® HS, High Sensitivity ELISAs, Human – IL-6 (R&D Systems, Minneapolis, USA)
- Quantikine® HS, High Sensitivity ELISAs, Human – TNFα (R&D Systems, Minneapolis, USA)
- Quantikine® HS, High Sensitivity ELISAs, Human – IL1ra (R&D Systems, Minneapolis, USA)

3.2.2 Geräte

- Blutglukosemessgerät (EKF Biosen C_line, EKF Diagnostik GmbH, Barleben/Magdeburg, Deutschland)
- Infusomat (Infusomat® fm, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Perfusor (Perfusor® compact, Braun AG Melsungen, Melsungen, Deutschland)
- Überwachungsmonitor Dash 2500 (GE Healthcare, GE Medical Systems Deutschland GmbH & Co. KG, Solingen, Deutschland)
- Indirekte Kalorimetrie (Vmax Encore 29h, Viasys Healthcare, Hoechberg, Deutschland)
- Zentrifuge (Beckmann GS-6KR Centrifuge)
- Notebook (DELL Latitude E6500, Dell GmbH, Frankfurt, Deutschland)
- Drucker (HP Color Laserjet, Hewlett-Packard GmbH, Böblingen, Deutschland)
- Microsoft Office Professional mit WORD 2007 und EXCEL 2007 (Microsoft®, Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA)
- GraphPad Prism Version 4 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA)
- EKG-Gerät MAC™ 1600, GE Medical Systems, Information Technologies GmbH, Freiburg, Deutschland
- Phasensensitives Monofrequenz-Impedanzanalysegerät Nutrigard-S (Data Input GmbH, Darmstadt, Deutschland)

3.3 Bestimmungsmethoden

3.3.1 Glukose

Die Bestimmung der venösen Blutglukose im Vollblut erfolgte mittels der Glukokinase-Methode (EKF Biosen C Line). Es wurden je Messwert Doppelbestimmungen durchgeführt, um Messungenauigkeiten und Fehler durch den Untersucher zu vermeiden. Zur Durchführung der Untersuchung und Auswertung wurde dann der jeweilige Mittelwert verwendet.

3.3.2 Insulin, C-Peptid und Glukagon

Die Bestimmung für Insulin, C-Peptid und Glukagon erfolgte über ein Radioimmunoassay (Millipore, St. Charles, Miss, USA), wobei die Trennung des Antigen-Antikörperkomplexes vom freien Antigen durch einen zweiten Antikörper in Polyethylenglycol erfolgte, der gegen den ersten Antikörper ausgerichtet ist. Nach Abzentrifugation wurde der Antigen-Antikörper-Komplex zur Auswertung herangezogen. Für Insulin und C-Peptid wurde EDTA-Plasma, für Glucagon Heparin-Aprotinin-Plasma verwendet.

3.3.3 Lipidparameter

3.3.3.1 Triglyzeride

Die Bestimmung der Triglyzeride erfolgte enzymatisch mittels Lipoproteinlipase-Methode (Roche/Hitachi, Roche Diagnostik Mannheim, Deutschland). Diese hydrolysiert die Triglyzeride zu Glycerol und den freien Fettsäuren. Das Glycerol wurde dann zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) oxidiert. Das H_2O_2 bildet mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol einen roten Farbstoff, dessen Intensität direkt proportional zur Menge der Triglyzeride ist.

3.3.3.2 Freie Fettsäuren (FFA)

Die Bestimmung der FFA erfolgte enzymatisch (WAKO, Neuss, Deutschland). Freie Fettsäuren wurden mittels Acyl-CoA-Synthase zu Acyl-CoA umgesetzt, das mittels Acyl-

CoA-Oxidase und 3-Methyl-N-Ethyl-N-Hydroxyethyl-Anilin als violetter Farbkomplex quantifiziert wurde.

3.3.4 Cortisol

Die systemischen Cortisolspiegel wurden mittels Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay bestimmt (Abbott / Axysm, Abott Park, IL, USA). Dabei ist die Abnahme der gemessenen Fluoreszenz äquivalent zur Menge an Cortisol.

3.3.5 Deuterierte Glukose

Die deuterierte Glukose (d2-Glukose) wurde mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) bestimmt. Es wurde nach Entproteinisierung mittels $\text{Ba}(\text{OH})^2\text{-ZnSo}_4$ die endogene Glukose und exogen infundierte d2-Glukose zu Pentaacetat derivatisiert. Mittels GC-MS werden die beiden Massen quantifiziert und zueinander als Tracer to Tracee Ratio [ttr] ins Verhältnis gesetzt. Daraus wird, unter Einrechnung der infundierten Menge an d2-Glukose, die EGP bestimmt.

3.3.6 Inkretine

Die Inkretine, GIP / GLP-1, wurden mittels Enzym linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) bestimmt (Millipore). GIP und GLP-1 wurden aus EDTA-Plasma mittels ELISA Sandwich Assay bestimmt, wobei der spezifische Antikörper an die Kavitäten einer Mikrotiterplatte in biotinylierter und in Horseradish Peroxidase (HRP) konjugierter Form gebunden ist. Der nicht gebundene Antikörper wurde gewaschen, die Quantifizierung erfolgt mittels zugesetzter Substratlösung und durch HRP freigesetzten Farbstoff.

3.3.7 Zytokine (IL-6, IL1ra, TNF α)

Die quantitative Bestimmung des Zytokins IL-6 erfolgte mit dem Immunoessay Quantikine HS IL-6 von R&D Systems. Hier wurde nach dem Protokoll vorgegeben durch die Firma vorgegangen.

Die quantitative Bestimmung des Zytokins IL1-ra erfolgte mit dem Immunoessay Quantikine HS IL-1ra von R&D Systems. Hier wurde nach dem vorgegebenen Protokoll durch die Firma vorgegangen.

Die quantitative Bestimmung des Zytokins TNF α erfolgte mit dem Immunoessay Quantikine Human TNF- α /TNFSF1A von R&D Systems. Hier wurde nach dem vorgegebenen Protokoll durch die Firma vorgegangen.

3.3.8 Glyzerol

Glyzerol wird enzymatisch bestimmt (Roche / R-BIOPHARM, Darmstadt, Deutschland). Glyzerol wird mittels Glyzerokinase und ATP phosphoryliert, das entstehende ADP mittels Phosphoenolpyruvat wieder ATP und Pyruvat zugeführt. Durch NADH und Lactat-Dehydrogenase wird Pyruvat zu Lactat und NADH zu NAD oxidiert. Die verbrauchte Menge an NADH ist der Menge an Glyzerol äquivalent.

3.4 Methoden

3.4.1 Studiendesign

Die Studie war eine randomisierte und Placebo-kontrollierte Interventionsstudie an gesunden Probanden.

Die Studie wurde nach den Bedingungen der Deklaration von Helsinki (Version 2008) durchgeführt und durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität am 25.11.2008 mit Vergabe einer Studiennummer (3107) genehmigt.

3.4.2 Probandenkollektiv und Rekrutierungsstrategien

Eingeschlossen wurden junge, gesunde Probanden im Alter von 20-40 Jahren mit einem BMI zwischen 20-25 kg/m². Auf eine Gleichverteilung zwischen männlichen und weiblichen Probanden wurde geachtet.

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte über öffentliche Aushänge, Anzeigen in Zeitungen sowie Darstellung der Studie auf der Internetseite des Deutschen Diabetes-Zentrums.

3.4.3 Screeninguntersuchung

Interessierten potentiellen Studienteilnehmern wurde vorab die Probandeninformation zugeschickt und daraufhin ein Termin zum Screening vereinbart. Beim Screening wurde dem Probanden nochmals Art, Sinn und Durchführung der Studie erläutert und alle offenen Fragen geklärt. Erst nach Unterzeichnung der Einverständniserklärung wurde eine Screeninguntersuchung durchgeführt. Diese beinhaltete eine umfassende medizinische Anamnese, körperliche Untersuchung inklusive Blutdruckmessung, EKG und Bioimpedanzmessung (BIA) sowie Erfassung von Größe (in cm) und Gewicht (in kg). Des Weiteren wurden eine Blutabnahme zur Bestimmung von Blutbild (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC), Kreatinin, Leberwerte (GOT, GPT, γ -GT, AP), Bilirubin, Laktatdehydrogenase (LDH) und Lipidparameter (Triglyzeride, Gesamt-, HDL- und LDL-Cholesterin) und ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt.

Die bioelektrische Impedanzanalyse (BIA) diente der Bestimmung der Körperzusammensetzung, insbesondere der fettfreien Masse und des Gesamtwasseranteils, woraus sich die Fettmasse bestimmen lässt. Die fettfreie Masse stellt einen wichtigen Normalisierungsfaktor für die interindividuelle Vergleichbarkeit der Insulinresistenz in der Clamp-Untersuchung dar. Die Messung der Bioimpedanz wurde mit dem phasensensitiven Monofrequenz-Impedanzanalysegerät Nutrigard-S (Data Input GmbH, Darmstadt) durchgeführt. Die Messung wurde am nüchternen Probanden durchgeführt, der vorab seine Blase entleert hatte. Der Proband wurde gebeten vor der Untersuchung bereits 10 Minuten gelegen zu haben, damit sich das Blutvolumen gleichmäßig verteilt.

Je zwei Hand- und Fußelektroden wurden an der dominanten Körperseite auf vorher gereinigter Haut aufgebracht. Die Handelektroden wurden zum einen auf Höhe des Ulnarköpfchens und zum anderen über der Mitte der Grundgelenke der Finger aufgebracht. Die Fußelektroden wurden zwischen Außen- und Innenknöchel sowie auf Höhe der Grundgelenke der Zehen aufgebracht. Dabei sollte der Abstand der Elektroden mindestens 5cm betragen. Dann wurden die Messklemmen am Ende der Elektroden angebracht, die Probandendaten wurden in das Computerprogramm eingegeben

(NutriPlus-Software) und die Messung gestartet. Während der Messung wurde darauf geachtet, dass der Proband sich nicht bewegt, Arme und Beine sich auf Körperhöhe befinden und dass äußere Metallgegenstände nicht berührt wurden. Es wurden je Proband zwei Messungen durchgeführt und die Mittelwerte in das Untersuchungsprotokoll eingegeben.

Das Ruhe-EKG wurde zur Erfassung eventuell bestehender Rhythmusstörungen, Leitungsveränderungen, Herzmuskelverdickungen sowie akuter kardialer Erkrankungen eingesetzt. Dabei wurde das EKG-Gerät MAC™ 1600 der Firma GE Medical Systems verwendet. Der Proband entkleidete Brust, Arme und Beine und platzierte sich auf einer Untersuchungsliege. Es wurden die Standardableitungen nach Einthoven, die Extremitäten-Ableitungen nach Goldberger und die Brustwandableitungen nach Wilson abgeleitet. Zunächst wurden die Körperstellen, an denen die Elektroden angelegt wurden mit Kontaktspray befeuchtet, und dann die Elektroden mit Unterdruck angesaugt. Sobald der Patient ruhig lag konnte ein EKG registriert und ausgedruckt werden. Dabei wurde das EKG mit einer Amplitude von 10 mm/mV und einer Geschwindigkeit von 50mm/s geschrieben. Die Auswertung erfolgte durch eine ärztliche Beurteilung (Herzfrequenz, Rhythmus, Lagetyp und eventuell bestehende Leitungs- oder Erregungsrückbildungsstörungen), die ebenfalls ins Untersuchungsprotokoll eingegeben wurde.

3.4.4 Randomisierung

Sobald ein Proband alle Einschluss- und keines der Ausschlusskriterien erfüllte, konnte er an der Studie teilnehmen. Die Randomisierung erfolgte anhand einer vorher festgelegten Liste, in der vier verschieden feste Sequenzen (Abfolge der Untersuchungstage) vorher festgelegt waren. Indem jeden Probanden die nächste freie Nummer zugewiesen wurde, wurde er zufällig einer dieser Sequenzen zugewiesen. Screeninguntersuchung und erster Untersuchungstag sollten nicht mehr als vier Wochen auseinander liegen. Falls das doch der Fall war, wurde zumindest die Blutabnahme mit Bestimmung des Blutbildes und der Lipidwerte kurzfristig wiederholt.

3.4.5 Ein- und Ausschlusskriterien

Bei dem Probandenkollektiv mit einem BMI zwischen 20-25 kg/m² war eine sehr geringe Insulinresistenz zu erwarten, so dass durch die Interventionen eine Hemmung induziert und gemessen werden konnte.

Um geschlechtsspezifische Effekte auszuschließen wurde auf eine ausgeglichene Geschlechterratio geachtet. Bei den Frauen musste darauf geachtet werden, dass die Untersuchung zu einem vergleichbaren Zeitpunkt des Menstruationszyklus stattfand und die Einnahme von oralen Kontrazeptiva während der Studie nicht verändert wurde.

Die Ausschlusskriterien beinhalteten zum Einen Störgrößen, die einen direkten Einfluss auf die Insulinresistenz bzw. den Immunstatus hatten, zum Anderen jene Gegebenheiten, die eine Lipidgabe nicht ermöglichten oder eine LPS-Gabe kontraindizierten.

Zusätzlich wurde der Proband aufgrund der Menge des entnommenen Blutes bei einer bestehenden Anämie beim Screening oder Untersuchungstag von der Studie ausgeschlossen. Ebenfalls war eine fehlende Compliance oder eine psychische Erkrankung, bei der mit einer fehlenden Compliance zu rechnen ist, ein Ausschlusskriterium.

Einschlusskriterien im Detail waren:

- Alter ≥ 20 Jahre und ≤ 40 Jahre
- BMI zwischen 20 – 25 kg/m²
- Balancierte Geschlechterratio (50:50)

Ausschlusskriterien im Detail waren:

- Akute Infektionskrankheiten
- Autoimmunkrankheiten
- Hepatitis (GOT, GPT > 2 facher oberer Normwert)
- Gallenblasenerkrankungen
- Niereninsuffizienz
- Hyperlipidämien (Gesamtcholesterin > 200 mg/dl, Triglyzeride > 180 mg/dl)
- Anämie (Hämoglobin $< 12,5$ g/dl bei Frauen, $< 13,5$ g/dl bei Männern)

- Immunomodulatorische Medikamente (z.B. Glukokortikoide, Antihistaminika, Acetylsalizylsäure)
- Lipidsenker (z.B. Statine, Fibrate)
- Antihypertensiva
- Raucher
- HIV / AIDS
- Maligne Krebserkrankungen
- Psychiatrische Erkrankungen
- Schwangerschaft
- Bekannte Allergie gegenüber eine in der Studie verwandten Substanzen
- Suchterkrankungen (Alkohol, Drogenmissbrauch)
- Insulin-Sensitizer (z.B. Metformin, Glitazone)

3.4.6 Interventionen und Testablauf

Die Studie beinhaltete vier Interventionsarme im Abstand von mindestens 3 bis maximal 8 Wochen (Gesamtdauer mindestens 9, maximal 24 Wochen):

1. Fettmahlzeit mit insgesamt 100ml Sojaöl (entspricht 100g Sojaöl, ca. 800-1000 kcal), die innerhalb von 15 Minuten oral aufgenommen wurden. Die Dosis betrug 1,5g Sojaöl pro Kilogramm Körpergewicht, das entspricht ungefähr 800-1000 kcal. Das verwendete Sojaöl setzt sich folgendermaßen zusammen: 56% mehrfach ungesättigte Fettsäuren, 24% einfach ungesättigte Fettsäuren, 14% gesättigte Fettsäuren (detaillierte Zusammensetzung siehe Anlage).
2. Lipidinfusion als kontinuierliche Infusion. Dabei betrug die Gesamtdosis 515ml Lipovenös®, das entsprach 103g Sojaöl und enthielt ebenfalls 800-1000 kcal. Die Lipidinfusion setzte sich als eine Öl – in – Wasser - Emulsion zusammen. Dabei enthielten 500ml 100g gereinigtes Sojabohnenöl und 12,5g Glycerol (detaillierte Zusammensetzung siehe Fachinformation in Anlage). In den ersten zehn Minuten erfolgte eine Infusion mit 0,3ml/min, dann erfolgt eine kontinuierliche Steigerung bis 30 Minuten auf 1,5ml/min.

3. LPS-Gabe mit einer Gesamtdosis des Endotoxin von 0,5 ng/kg KG, die vorab eines jeden Untersuchungstag für den Probanden individuell berechnet wurde (LPS-Infusionsrate in ml/h = $0,3\text{ml}/(\text{h} \cdot \text{kg Körpergewicht [KG]}) \times \text{kgKG}$). Es setzte sich aus 10.000 Endotoxin units per vial mit zusammen, die in sterilem Wasser zu lösen waren (USP Zertifikat, siehe Anlage). Die Stocklösung wurde mit 2,5ml LPS-Lösung (200ng/ml) sowie 47,5ml 0,9% NaCl-Lösung gemischt (Endkonzentration 10 ng/ml). LPS wurde dann in einer Kurzinfusion über 10 Minuten mit der entsprechend errechneten Infusionsgeschwindigkeit für den einzelnen Probanden gegeben.
4. Glyzerolinfusion als Kontrollinfusion als kontinuierliche Infusion. Dabei beträgt die infundierte Gesamtdosis von Glyzerol 12,875g. 100ml der Infusionslösung setzen sich aus 100g aufgereinigtem Glyzerol und sterilisierter Lösung zusammen. Für die Applikation werden 12,5ml Glyzerol weiter mit 500ml isotonischer Kochsalzlösung (Fa. Fresenius Kabi AG) steril verdünnt, so dass eine Endkonzentration von 2,5 g/ml Glyzerol entsteht. Die Infusion erfolgt in den ersten zehn Minuten mit 0,3ml/min, dann kontinuierliche Steigerung bis 30 Minuten auf 1,5ml/min (analog zur Lipidinfusion).

Die einzelnen Untersuchungstage dauerten in der Regel inklusive der eingeschlossenen Nachbeobachtungszeit 12 Stunden. Für den hohen zeitlichen Umfang erhielt jeder Untersuchungsteilnehmer pro Untersuchungstag eine Aufwandsentschädigung von 250€.

3.4.7 Mögliche unerwünschte Wirkungen der verabreichten Medikamente

Folgende unerwünschte Wirkungen konnten durch die während der Studie verabreichten Medikamente entstehen:

Orale Fettgabe (Sojaöl): Durch die oralen Aufnahme einer Menge reinen Öls kann es zu Übelkeit und Erbrechen kommen. Bei vorbestehenden Erkrankungen der Gallenwege, insbesondere Gallensteinen, kann es zur Auslösung einer Gallenkolik kommen.

Fettinfusion (Lipovenös): Mögliche Frühreaktionen sind ein geringer Temperaturanstieg, Hitze- oder Kältegefühl bis hin zu Schüttelfrost oder Flush-Symptomatik, Appetitlosigkeit,

Übelkeit und Erbrechen, Atemnot mit evt. Zyanose, Blutdruckschwankungen (Hypo- und Hypertonie), Überempfindlichkeitsreaktionen sowie Kopf- und Gliederschmerzen. In diesen Fällen wäre die Infusion zu beenden. Darüber hinaus kann sich in seltenen Fällen ein Übersättigungssyndrom, insbesondere bei vorbestehenden Stoffwechselstörungen, ausbilden, das durch Lebervergrößerung, Hyperlipidämie, Veränderung der Blutgerinnung und Thrombopenie mit Blutungsneigung, Milzvergrößerung und Anämie, Leukopenie, Kopf- und Bauchschmerzen gekennzeichnet. Auch hier würde eine sofortige Beendigung der Studie erfolgen.

LPS-Gabe: Die venöse Endotoxingabe wurde schon in einer Vielzahl von Studien durchgeführt. Dabei wurden auch Dosierungen eingesetzt, die bis zu 20fach über der in dieser Studie eingesetzten Dosis lagen (154-156). Nach LPS-Gabe kommt es dosisabhängig bei 1-4 ng Endotoxin/kg Körpergewicht zu den Symptomen einer Grippe (Schüttelfrost, Kopf- und Gliederschmerzen, Übelkeit und Erbrechen), begleitet von einem Anstieg der Körpertemperatur auf Werte bis maximal 38,4°C sowie einem Abfall des Blutdrucks und einem Anstieg der Herzfrequenz. Es kommt zu einem raschen und transienten Anstieg der Leukozyten (max. 16.000/ μ l), des CRP-Spiegels (max. 7,3 mg/dl) und des Serum-Cortisols. Alle Veränderungen waren vorübergehend und ohne Folgen (157). Alle Patienten werden während der Studie kontinuierlich bezüglich Blutdruck und Herzfrequenz überwacht, die Körpertemperatur alle 30 Minuten erfasst. Mögliche Vorerkrankungen, die zu einer Beeinträchtigung des Immunsystems führen sowie subklinische Infekte werden im Rahmen der Screeninguntersuchung erfasst und zum jeweiligen Untersuchungstag nochmals zusammen mit einem aktuellen Blutbild kontrolliert.

Glyzerolinfusion: In Einzelfällen wurde laut Fachinformation bei rascher Infusion über eine Hämolyse, Hämoglobinurie und nachfolgendes Nierenversagen berichtet, ebenso ist eine Hyperglykämie und Hyperosmolalität möglich, die zu einer Überlastung des kardiovaskulären Systems führen kann.

3.4.8 Abbruchkriterien

Die Studie konnte jederzeit auf Wunsch des Probanden auch ohne medizinische Begründung abgebrochen werden. Des Weiteren waren vor allem folgende Situationen zwingende Gründe für einen Abbruch der Studie:

- Übelkeit und Erbrechen nach der Gabe der fettreichen Mahlzeit oder Fettinfusion
- Schüttelfrost, Temperaturanstieg $> 39^{\circ}\text{C}$
- Hypoglykämie im hyperinsulinämischen - euglykämischen Clamp
- Überempfindlichkeitsreaktionen auf eine der verabreichten Substanzen

3.4.9 Untersuchungsmodule der einzelnen Untersuchungstage

3.4.9.1 Fragebogen und Anthropometrie

Zu Beginn eines jeden Untersuchungstages wurden aktuelle Medikation und eventuell bestehende Infektionserkrankungen des Probanden abgefragt. Des Weiteren wurden Größe und Gewicht, sowie daraus resultierend BMI, des Probanden neu bestimmt (**Abbildung 3**).

Zudem protokollierte der Proband drei Tage vor dem Untersuchungstag detailliert seine Ernährungsweise.

3.4.9.2 Vitalparameter

Vor und während jeder Untersuchung wurde die Körpertemperatur, Blutdruck und Herzfrequenz alle 30 Minuten erfasst. Des Weiteren wurde vor dem Start der Untersuchungen sowie am Ende eine Kontrolle des Blutbildes zur Bestimmung des Hämoglobinwertes sowie der Leukozytenanzahl durchgeführt. Damit konnten akute Infektionserkrankungen oder Anämien erfasst werden.

Im Verlauf des gesamten Untersuchungstages erfolgten eine kontinuierliche Kontrolle der Vitalparameter (Herzfrequenz, Blutdruck, Körpertemperatur) sowie eine Nachbeobachtungszeit zur Vermeidung einer Unterzuckerung. Langfristige unerwünschte Nebenwirkungen waren nicht zu erwarten.

3.4.9.3 Hyperinsulinämischer – euglykämischer Clamp

Bestimmung der Insulinresistenz durch kontinuierliche Insulininfusion (1U/ml) und Adjustierung des Blutzuckers auf den euglykämischen Zielbereich von 100 ± 5 mg/dl durch variable Infusion von 20%iger Glukoselösung über einen Zeitraum von zwei Stunden. Während dieser Zeit wird der Blutzucker alle fünf Minuten bestimmt. Diese Untersuchung fand im Anschluss an die Interventionen nach sechs Stunden statt.

Beim hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp konnte es durch die Gabe von intravenösem Insulin zu einer Hypoglykämie kommen. Dies wurde während der Untersuchung durch die gleichzeitige Gabe von intravenöser Glukose sowie 5-minütigen Kontrollen der venösen Blutzuckerwerte verhindert. Dennoch konnte es auch nach Abschluss der Untersuchung noch zu einer Hypoglykämie kommen, was durch eine überlappende Infusion von Glukose und einer ausreichenden Mahlzeit verhindert werden sollte. Außerdem durfte der Proband erst ungefähr eine Stunde nach Abschluss der Untersuchung und nach erneuter Blutzuckerkontrolle das Studienzentrum verlassen.

3.4.9.4 Indirekte Kalorimetrie

Mittels indirekter Kalorimetrie wurde der Ganzkörperenergieumsatz in Ruhe bestimmt. Es erfolgte die kontinuierliche Messung des produzierten Kohlendioxids (VCO_2) und verbrauchten Sauerstoffs (VO_2) über 25-30 Minuten unter definierter Raumlufzufuhr im Atemzelt (Vmax Encore 29n). Für diese Untersuchung waren keine Risiken oder Nebenwirkungen bekannt. Die Berechnung der Lipidoxidationsrate (Lox) und oxidativen Glukoseverwertungsrate (Gox) erfolgte unter der Annahme einer fixen Proteinoxidation (Pox) von 15 % des Ruheenergieumsatzes (REE) gemäß folgender Formeln (158):

$$\text{Lox (mg*kg}^{-1}\text{*min}^{-1}) = [(1,67*VO_2) - (1,67*VCO_2) - 0,307*Pox]*1000/\text{kg Körpergewicht}$$

$$\text{Gox (mg*kg}^{-1}\text{*min}^{-1}) = [(4,55*VCO_2) - (3,21*VO_2) - 0,459*Pox]*1000/\text{kg Körpergewicht}$$

Unter Verwendung der aus dem Clamp berechneten Glukoseaufnahme des gesamten Körpers (Rd) konnte so auch die nicht-oxidative Glukoseverwertungsrate (non-ox Gluc) wie folgt berechnet werden:

Non-ox Gluc=Rd-Gox

3.4.9.5 Bestimmung der endogenen Glukoseproduktion (EGP)

Durch Anreicherung der körpereigenen d2-Glukosespiegel mittels kontinuierlicher Infusion von d2-Glukose kann die endogene Glukoseproduktion indirekt bestimmt werden. Für die deuterierte Glukose waren keine Risiken oder Komplikationen bekannt. Dazu wird der körpereigene d2-Glukosespiegel vom im Mittel 1,47% durch eine kontinuierliche Infusion mit d2-Glukose (0,0119 mg/kg KG*min) nach anfänglicher Bolusgabe über 5 min zur schnelleren Anreicherung ([1,19 mg/kg KG]*[Nüchternblutzucker/90 mg/dl]) um weitere 2% angereichert. Die stabile Anreicherung wurde 2 Stunden nach Infusionsstart erreicht.

Für die weitere Berechnung der basalen EGP wurde die Anreicherung im Plasma (Tracer to Tracee Ratio [ttr]) bei Minute 300 und 355 nach Start der Intervention zugrunde gelegt.

Zur Berechnung der infundierte Menge d2-Glukose benötigt man die d2-Konzentration im Infusat (mg/ml), die d2-Infusionsgeschwindigkeit (ml/h) sowie das Körpergewicht des Probanden (kg) und berechnet die infundierte D2-Glukosemenge mit folgender Formel:

$$d2 - Infusat [mg/kg \times min] = \frac{d2-Inf-Geschw. [ml/h] \times d2-Konz.-Inf. [mg/ml]}{60 min. \times Körpergewicht [kg]}$$

Die Berechnung der basalen EGP erfolgte dann über folgende Formel:

$$EGP_{basal} = \frac{d2 - Infusat [mg/kg \cdot min] \times 98}{Mittelwert ttr basal}$$

Für die Berechnung der EGP im Clamp wurde der Mittelwert der ttr von Minute 450, 465 und 480 (Ende des Clamps) zugrunde gelegt, des Weiteren wurde die Konzentration der d2-Glukose in der infundierten 20%igen Glukoselösung (APE Glukose) sowie der Mittelwert der Infusionsgeschwindigkeit (GIR; mg/kg*min) im genannten Zeitraum benötigt.

Die Berechnung der EGP im Clamp erfolgt dann folgendermaßen:

$$EGP_{ins} = \frac{GIR [mg/kg \cdot min] \times APE \text{ Glukose} + d2 - Infusat [mg/kg \cdot min] \times 98}{\text{Mittelwert ttr Clamp} - GIR [mg/kg \cdot min]}$$

Zusätzlich wurde die insulinvermittelte Suppression der EGP berechnet, d.h. die Differenz zwischen der EGP im Clamp und unter basalen Bedingungen, ausgedrückt als Delta-EGP.

Die um die endogene Glukoseproduktion korrigierte Rate of disappearance (Rd) während des Fließgleichgewichts am Ende des Clamp wurde wie folgt berechnet:

$$Rd = EGP_{ins} + GIR$$

3.4.10 Laboranalytik

Insgesamt wurden maximal 280ml Blut an einem Untersuchungstag entnommen. Vorab und am Ende des Versuchstages erfolgte eine Kontrolle des Blutbildes, insbesondere des Hämoglobinwertes. Über den gesamten Untersuchungstag wurden zu definierten Zeitpunkten folgende Parameter bestimmt: Blutglukose, Insulin, C-Peptid, Triglyzeride, Freie Fettsäuren, Cortisol, Glukagon, deuterierte Glukose, Inkretine (GLP-1, GIP), Immunmediatoren (Zytokine).

Beim Legen der Venenverweilkanüle zur Blutentnahme sowie Gabe von Infusionen konnte es in seltenen Fällen zu einem kleinen Bluterguss oder einer lokalen Venenreizung an der Punktionsstelle kommen. Sehr selten konnte es zu einer Venenentzündung kommen und in extremen Fällen könnte eine Verletzung eines Hautnerves auftreten.

3.4.11 Statistik

Für die Erhebung und Dokumentation der Daten wurden hauptsächlich Microsoft Word und Excel verwendet. Die statistische Auswertung und graphische Darstellung der Messdaten erfolgte mit GraphPad Prism Version 4. Dargestellt sind in den Abbildungen wie angegeben Mittelwert und Standardfehler des Mittelwertes (SEM). Die Gruppenvergleiche wurden mittels ANOVA für verbundene Stichproben mit den Nachtest nach Dunnett zum Vergleich zur Kontrollintervention durchgeführt. Ein p-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen. Für die Vergleiche der Zeitverläufe der

Metaboliten wurde die Fläche unter der Verlaufskurve (AUC) mittels kleinster Quadrate-Methode für jeden Probanden und Intervention berechnet und diese mittels ANOVA für verbundene Stichproben und Nachtest nach Dunnett gegenüber der Kontrollintervention verglichen.

4 RESULTATE

4.1 Probandenkollektiv

Insgesamt wurden 73 Probanden gescreent, von denen bereits 37 beim Erstgespräch aufgrund bestimmter Ausschlusskriterien ausgeschlossen werden konnten (z.B. Alter >40 Jahre oder bekannter Diabetes mellitus). Die übrigen 36 Probanden wurden einer Screeninguntersuchung unterzogen. Von diesen Probanden wurden nach der Voruntersuchung weitere 12 Probanden ausgeschlossen. 9 Probanden hatten erhöhte Cholesterinspiegel, 2 Probanden einen BMI außerhalb der Einschlusskriterien und 1 Proband eine pathologische Blutgerinnung. Somit konnten insgesamt 21 Probanden randomisiert werden. Vor der ersten Untersuchung beendeten 5 Probanden die Studie (n=4 wegen Invasivität der Untersuchungen, n=1 wegen Zeitmangels), 4 weitere Probanden brachen die Studienteilnahme ab (n=2 wegen Invasivität der Untersuchungen, n=1 wegen Zeitmangels, n=1 wurde als Leistungssportler ausgeschlossen). Zwei Probanden hatten die Studie zum Zeitpunkt der Auswertung für die vorliegende Arbeit noch nicht abgeschlossen.

Aktuell hatten 10 Probanden die Untersuchungstage komplett abgeschlossen. Von diesen wurden zwei nach Auswertung der Daten wegen bestehender Insulinresistenz im Kontrollversuch herausgenommen, so dass in die Auswertung der Daten insgesamt 8 Probanden eingingen (**Abbildung 4**).

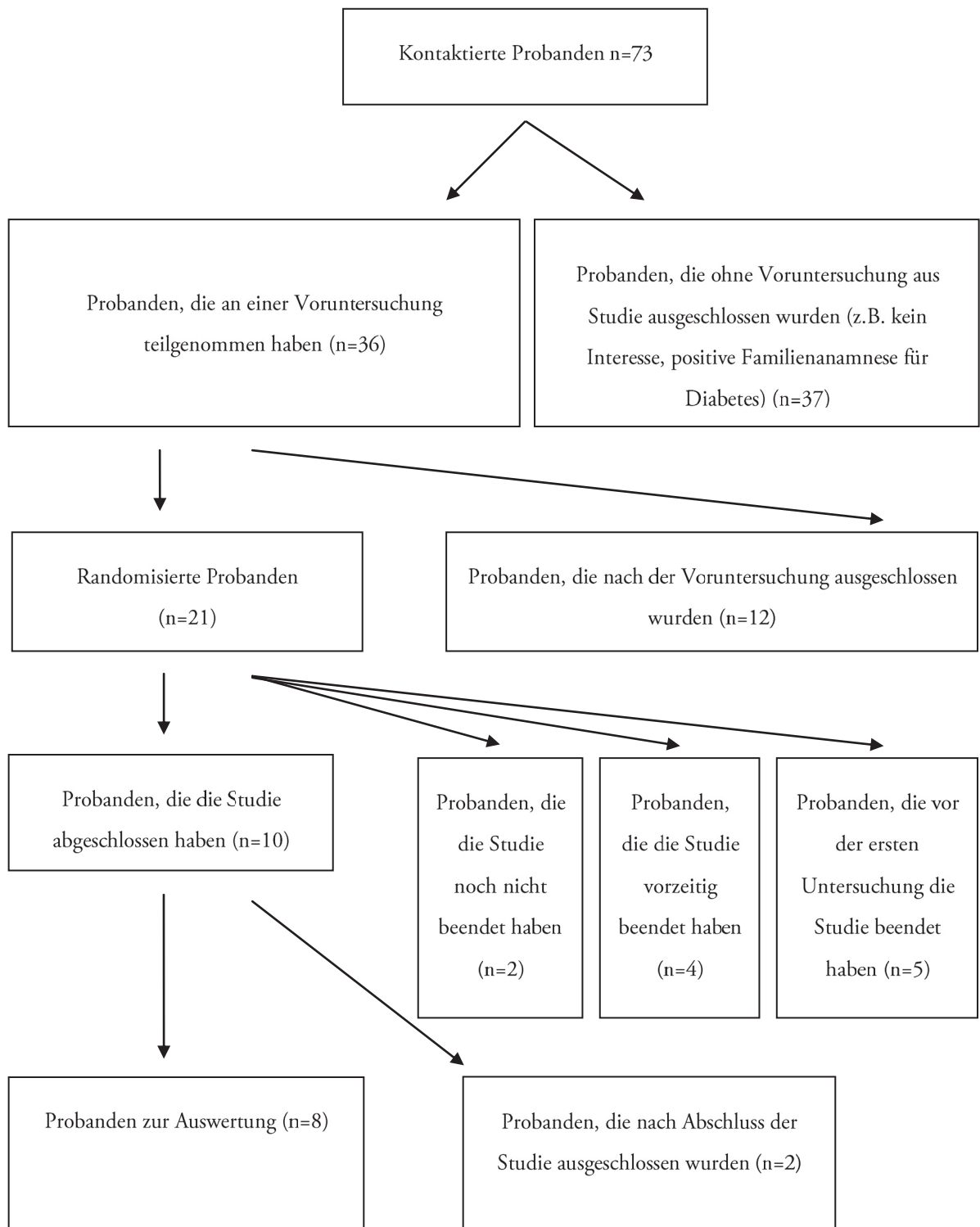


Abbildung 4 Flow Chart Probanden

4.1.1 Basischarakteristika

Von den 8 eingeschlossenen Probanden waren 5 männliche und 3 weibliche Probanden. Alle lagen mit den BMI-Werten innerhalb der Normgrenzen, ebenso mit der Körperfettmasse. Serumcholesterinspiegel (inklusive HDL- und LDL-Cholesterin) sowie Triglyzeride und Leberenzyme (GOT / GPT) waren im Normbereich. Während der gesamten Untersuchungszeit konnte man keine Zunahme des Körpergewichtes finden (Tabelle 3). Außerdem hatte keiner der Probanden erstgradige Verwandte mit Diabetes mellitus und ein bei der Screening-Untersuchung durchgeführter Orale Glukosetoleranztest war unauffällig (nach Richtlinien der WHO).

Tabelle 3 Basischarakteristika

Basischarakteristika		Mean $\pm$ SD	Minimum - Maximum
Geschlecht [m/w]	5 / 3		
Alter [Jahre]		26 $\pm$ 4	22 - 29
Gewicht [kg]		73 $\pm$ 6	63 - 82
BMI [kg/m ²]		22,3 $\pm$ 1,3	20,5 - 24,3
Hüftumfang [cm]		98 $\pm$ 4	92 - 102
Körperfett [%]		20 $\pm$ 5	15 - 28
Blutdruck [mmHg]		122 $\pm$ 12 / 70 $\pm$ 8	108 - 140 / 60 - 88
Triglyzeride [mg/dl]		93 $\pm$ 30	47 - 135
Cholesterin [mg/dl]		178 $\pm$ 27	117 - 200
HDL-Cholesterin [mg/dl]		57 $\pm$ 19	31 - 80
LDL-Cholesterin [mg/dl]		103 $\pm$ 20	64 - 133
GPT [U/l]		20 $\pm$ 6	12 - 29
GOT [U/l]		25 $\pm$ 3	19 - 30
Gewicht im Studienverlauf			
Untersuchungstag 1 [kg]		72 $\pm$ 6	64 - 82
Untersuchungstag 2 [kg]		72 $\pm$ 7	62 - 83
Untersuchungstag 3 [kg]		72 $\pm$ 6	62 - 81
Untersuchungstag 4 [kg]		72 $\pm$ 7	63 - 82

4.2 Insulinsensitivität

Allgemein lässt sich sagen, dass durch alle drei Interventionen eine Reduktion der Insulinsensitivität im Vergleich zur Kontrollintervention erreicht werden konnte. Dies wird durch die unten stehende Grafik veranschaulicht.

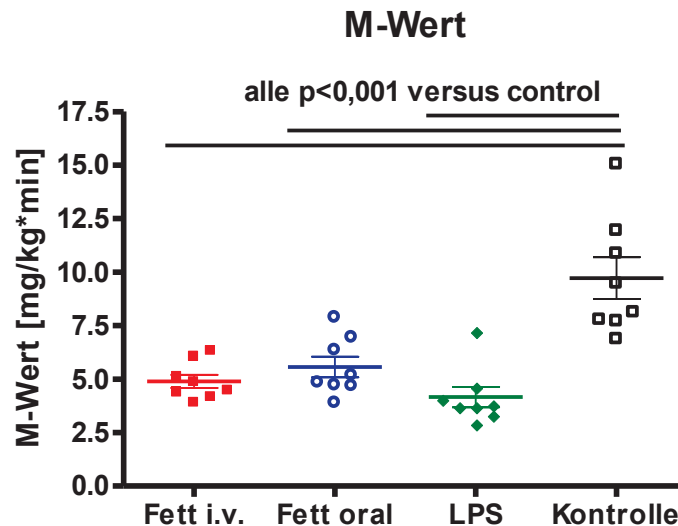


Abbildung 5 Darstellung der M-Werte der einzelnen Interventionen

Ein Punkt entspricht einem Probanden, die Linie dem Mittelwert und die Balken der SEM (n = 8 Probanden), Vergleich der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett.

Hier grafisch dargestellt, sind die M-Werte, die im hyperinsulinämisch-euglykämischen Clamp gemessen wurden und ein Maß für die Insulinsensitivität sind. Es stellt sich ein Unterschied zwischen der Kontrollintervention und den anderen Interventionen dar (alle p-Werte < 0,001). Die einzelnen Werte (Mean ± SEM) für die Interventionen sind Fett i.v. $5,156 \pm 0,354$ mg/kg KG*min, Fett oral $5,546 \pm 0,484$ mg/kg KG*min, LPS $4,061 \pm 0,523$ mg/kg KG*min und Kontrolle $9,929 \pm 1,149$ mg/kg KG*min.

4.3 Hepatische Insulinsensitivität

Um die hepatische Insulinempfindlichkeit zu quantifizieren wurde die EGP mittels Isotopendilutionsmethode unter Verwendung von deuterierter Glukose bestimmt. Basal findet sich eine Suppression der EGP durch intravenöse Fettgabe im Vergleich zur

Kontrolle ($1,64 \pm 0,04$ mg/kg KG*min vs. $1,86 \pm 0,06$ mg/kg KG*min, $p > 0,05$, **Abbildung 6**).

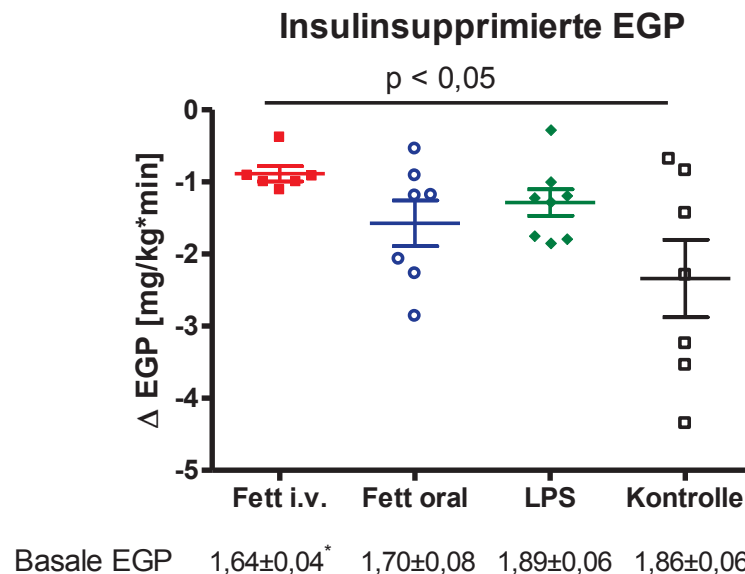


Abbildung 6 Darstellung der insulinvermittelten Suppression der endogenen Glukoseproduktion.

Ein Punkt entspricht einem Probanden, die Linie dem Mittelwert und die Balken der SEM ($n = 8$ Probanden), Vergleich der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett.

Bei allen Interventionen und dem Kontrollversuch findet man eine Suppression der EGP durch die Insulinapplikation, wobei der Effekt in der Kontrollintervention am stärksten ausgeprägt ist. Lediglich die Fettinfusion führt zu einer Verminderung der insulinvermittelten EGP-Suppression im Vergleich zur Kontrolle ($p < 0,05$). Damit lässt sich zeigen, dass die intravenöse Fettgabe die hepatische Insulinempfindlichkeit beeinträchtigt.

4.4 Fettstoffwechsel

Um den Fettstoffwechsel zu quantifizieren wurden während der Untersuchungstage zu mehreren Zeitpunkten die Serumspiegel von Triglyzeriden und freien Fettsäuren gemessen. Nach einer Fettinfusion zeigt sich ein deutlicher und kontinuierlicher Anstieg der Triglyzeride auf maximal 389 ± 115 mg/dl am Ende der Interventionsphase (Minute 355, $p < 0,01$ für die AUC versus Kontrolle; **Abbildung 7**). Für die anderen Interventionen (LPS, Fett oral und Kontrolle) zeigt sich keine Veränderung der Triglyzeridwerte.

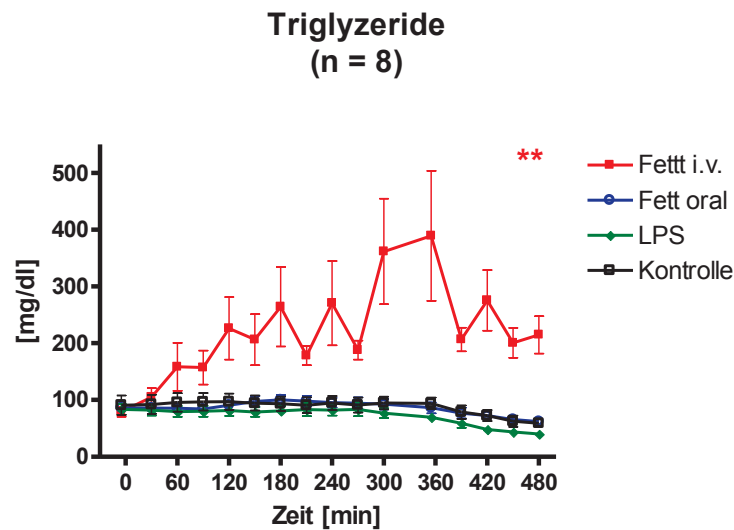


Abbildung 7 Darstellung der Serumspiegel der Triglyzeride über den gesamten Untersuchungszeitraum (mg/dl).

Mittelwert und SEM (n = 8 Probanden), Vergleich der AUC der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett. **p<0,01.

Ähnliche Befunde finden sich für die FFA. Auch hier findet sich ein signifikanter und kontinuierlicher Anstieg der Serumspiegel nach der Fettinfusion ($p<0,01$, **Abbildung 8**). Die Spiegel der freien Fettsäuren liegen nach Gabe von Fett i.v. in der Minute 180 bei $0,806 \pm 0,191$ mmol/l, in der Minute 355 bei $0,875 \pm 0,181$ mmol/l. Zudem wurde auch ein Anstieg der FFA-Spiegel nach der LPS-Intervention auf $0,661 \pm 0,205$ mmol/l bei Minute 180 und eine weitere Erhöhung bis Minute 355 ($0,884 \pm 0,221$ mmol/l) auf ein vergleichbares Niveau wie bei der Lipidinfusion ($p<0,01$) beobachtet. Durch den Insulineffekt fallen die FFA-Werte wie erwartet in der Clamp-Untersuchung ab Minute 360 wieder auf Werte von $0,439 \pm 0,037$ mmol/l nach Fettinfusion und $0,159 \pm 0,08$ mmol/l nach LPS-Infusion ab.

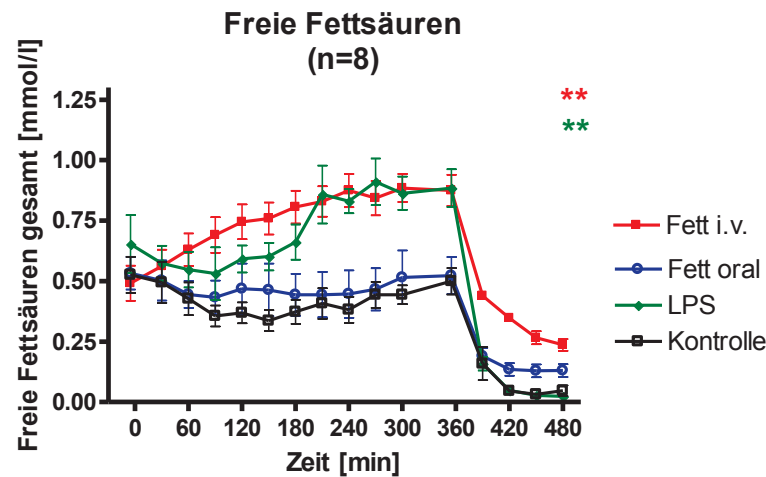


Abbildung 8 Darstellung der freien Serumspeiegel der freien Fettsäuren (mmol/l).

Mittelwert und SEM (n = 8 Probanden). Vergleich der AUC der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett. **p<0,01

Nach der Fettmahlzeit findet sich keine Veränderung der freien Fettsäuren oder Triglyzeriden im Vergleich zur Kontrolluntersuchung mit Glycerol. Auch hat die LPS-Infusion auf die Triglyzeridspiegel im Serum keinen Einfluss.

4.5 Substratoxidation

Die Lipidoxidation war nach der Fettinfusion am Ende der Intervention im Vergleich zum Kontrollversuch erhöht ($1,43 \pm 0,11$ mg/kg*min vs. $0,97 \pm 0,10$ mg/kg*min, $p < 0,01$; **Abbildung 9A**). Im Clamp sank die Lipidoxidation bei allen Interventionen ab, der Abfall in der Kontrollgruppe war am stärksten. Am Ende des Clamps war die Lipidoxidation sowohl nach intravenöser als auch oraler Fettgabe höher im Vergleich zur Kontrolle ($1,06 \pm 0,08$ mg/kg*min nach Fett i.v. ($p < 0,001$), $0,66 \pm 0,09$ mg/kg*min nach Fettgabe oral ($p < 0,05$) vs. $0,29 \pm 0,10$ mg/kg*min nach Kontrollinfusion).

Die oxidative Glukoseverwertung war am Ende der Interventionsphase nur nach der Fettinfusion im Vergleich zur Kontrolle erniedrigt ($0,20 \pm 0,18$ mg/kg*min vs. $0,98 \pm 0,18$ mg/kg*min, $p < 0,01$; **Abbildung 9B**). Im Clamp stieg die oxidative Glukoseverwertung in allen Interventionen an und es fanden sich keine Unterschiede mehr. Die nicht-oxidative Glukoseverwertung zeigte sich nach allen Interventionen vergleichbar und stieg im Clamp an. Der Anstieg im Kontrollversuch war deutlich stärker ausgeprägt, so dass die nicht-

oxidative Glukoseverwertung am Ende des Clamps in allen Interventionen um ca. 50% niedriger war als im Kontrollversuch (alle $p < 0,001$).

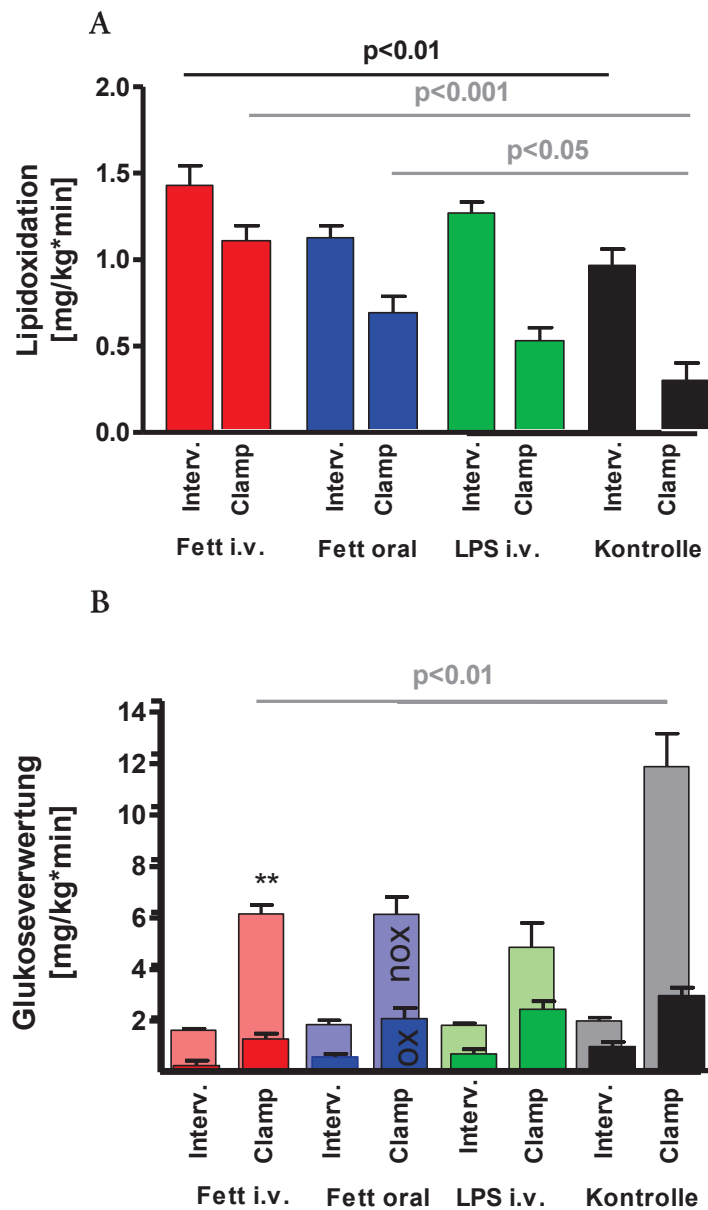


Abbildung 9 Lipidoxidation (A) und oxidative (ox, dunkel gefärbt) sowie nicht-oxidative (nox, hell gefärbt) Glukoseverwertung (B) gemessen mittels indirekter Kalorimetrie

Mittelwert $\pm$ SEM (n=8 Probanden). Vergleich der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett. Angegeben ist der p-Wert vs. Kontrolle für Lipidoxidation (A) und nicht-oxidative Glukoseverwertung (B); ** $p < 0,01$ der oxidativen Glukoseverwertung vs. Kontrolle.

4.6 Inkretine

Nur nach oraler Fettbelastung war ein Anstieg von GIP auf einen maximalen Wert von 291 ± 55 pg/ml in der Minute 180 zu beobachten. Im weiteren Verlauf fielen die Plasmaspiegel leicht bis zur Minute 360 auf 232 ± 58 pg/ml ab ($p < 0,01$; **Abbildung 10A**).

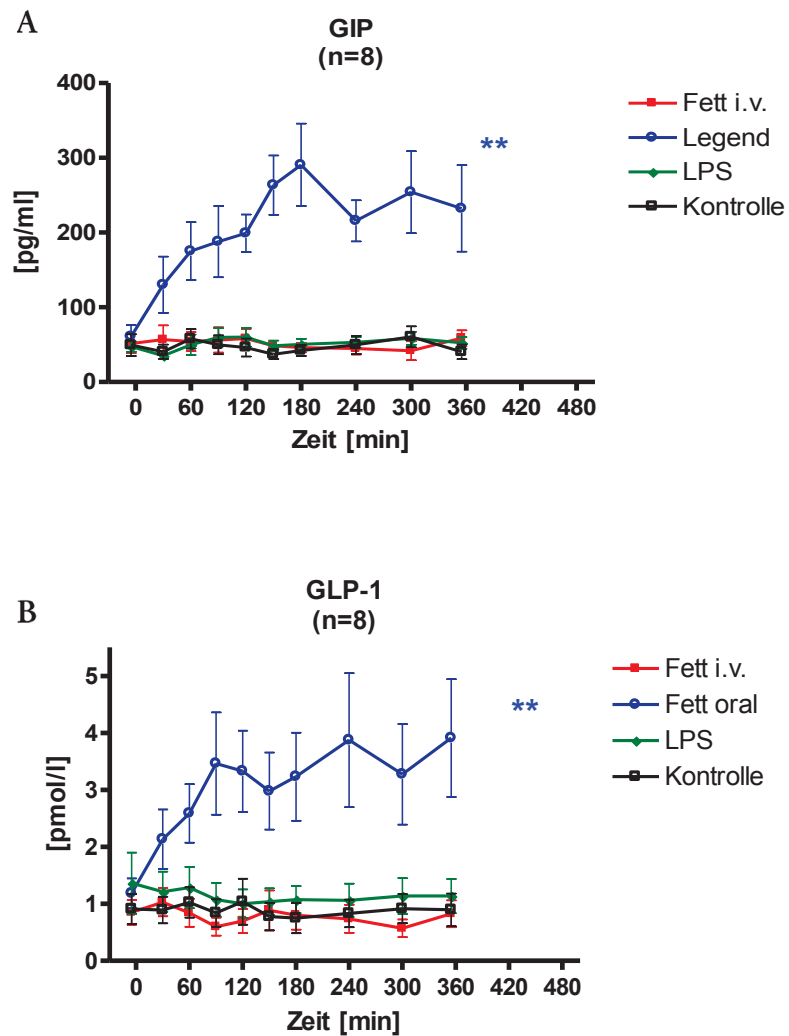


Abbildung 10 Darstellung von GIP (A) und GLP-1 (B) über den gesamten Untersuchungszeitraum unterteilt nach Interventionen.

Mittelwert und SEM ($n = 8$ Probanden). Vergleich der AUC der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett, $**p < 0,01$

Ein Anstieg für GLP-1 erfolgte ebenfalls nur nach oraler Fettbelastung nahezu kontinuierlich, bis zwischen Minute 180 und 360 die maximalen Spiegel erreicht wurden ($3,2 \pm 0,8$ pmol/l bzw. $3,9 \pm 1,0$ pmol/l; $p < 0,01$ versus Kontrolle; **Abbildung 10B**).

4.7 Stress und Entzündung

Alleinig nach der LPS-Infusion war ein Anstieg aller pro- und antiinflammatorischen Entzündungsmarker sowie für Cortisol zu beobachten

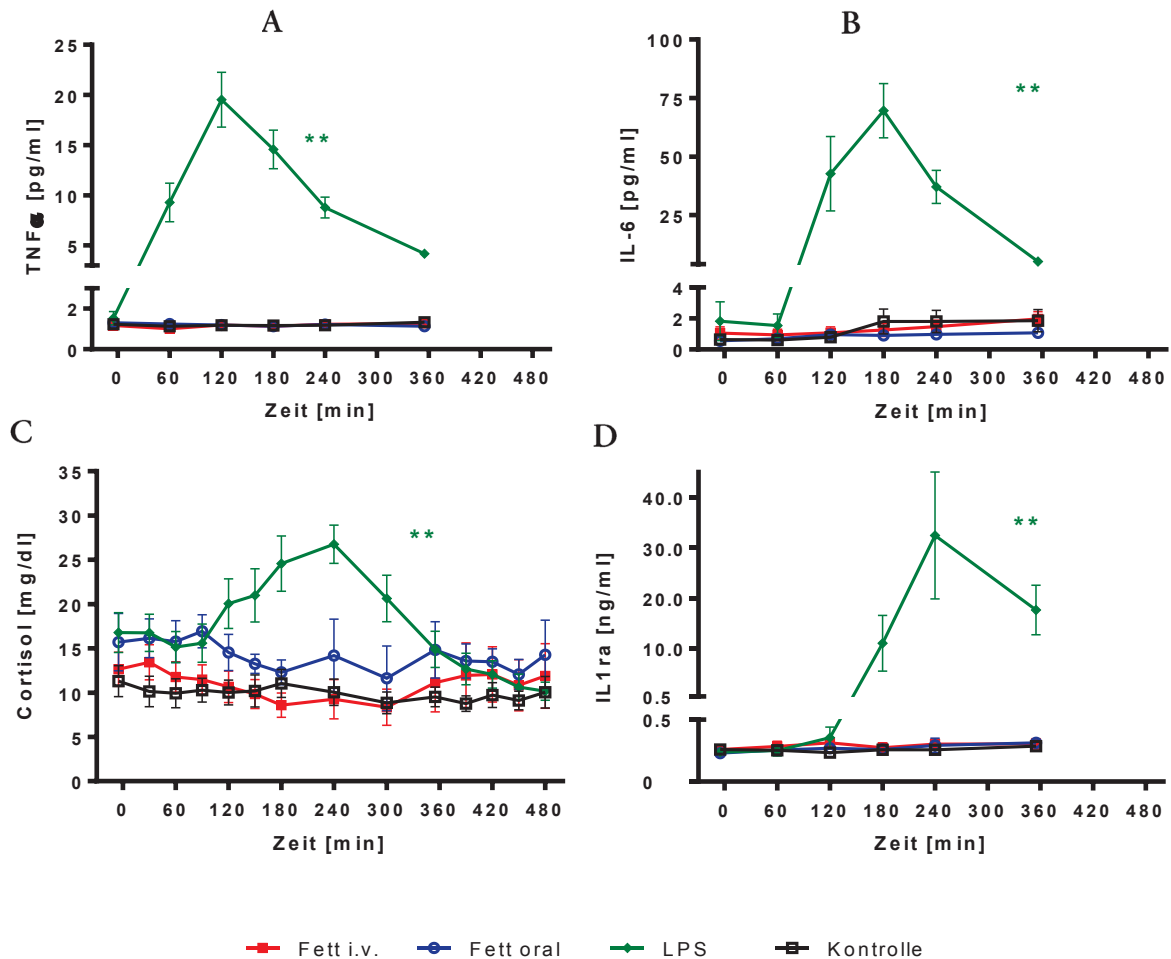


Abbildung 11 Darstellung der zirkulierenden Spiegel von TNFα (A), IL-6 (B), Cortisol (C) und IL1ra (D) im Serum im Verlauf des Untersuchungszeitraums während aller Interventionen.

Mittelwert $\pm$ SEM (n = 8 Probanden), Vergleich der AUC der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett **p<0,01

(alle p<0,01 im Vergleich zur Kontrolle). Im zeitlichen Ablauf erfolgte zuerst einen Anstieg der pro-inflammatorischen Zytokine (TNFα und IL-6; **Abbildung 11A und 11B**), anschließend ein Anstieg der anti-inflammatorischen Marker (Cortisol und IL-1ra; **Abbildung 11C und 11D**). Der Anstieg von IL1ra und Cortisol war zeitgleich zum bereits beschriebenen Anstieg der FFA im Plasma.

4.8 Vitalparameter

Eine Veränderung der Vitalparameter fand sich analog zu der systemischen Inflammationsreaktion ausschließlich nach der LPS-Intervention. Hier konnte ein leichter Anstieg der Körpertemperatur (max. $+0,8^{\circ}\text{C}$; **Abbildung 12A**) und der Herzfrequenz (max. $+21$ Schläge/min; **Abbildung 12B**) als Ausdruck einer systemischen Entzündungsreaktion beobachtet werden (beide $p < 0,01$ versus Kontrollintervention). Änderungen des Blutdruckes ergaben sich in keiner Intervention.

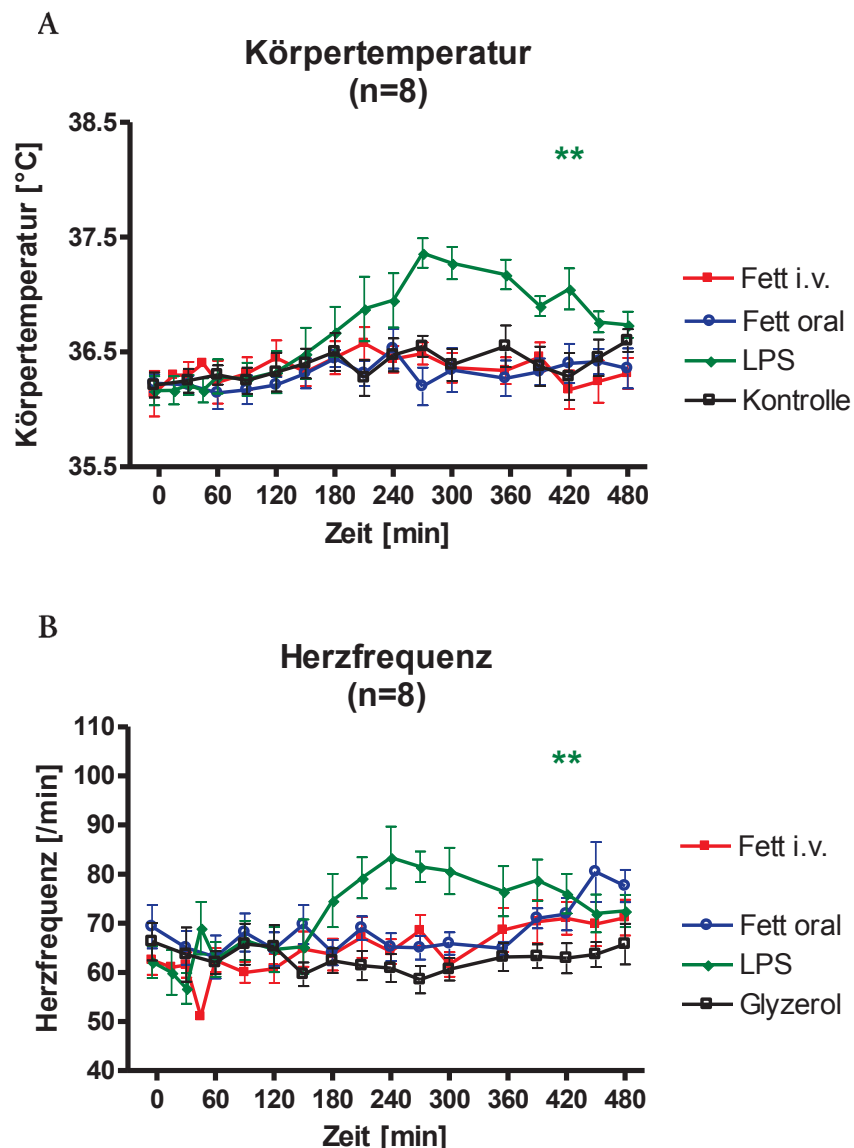


Abbildung 12 Darstellung der Körpertemperatur [$^{\circ}\text{C}$](A) und Herzfrequenz [/min] (B) im Verlauf des Untersuchungszeitraum während der einzelnen Interventionen.

Mittelwert $\pm$ SEM (N = 8 Probanden), Vergleich der AUC der Gruppen gegenüber der Kontrolle mittels ANOVA und Nachtest nach Dunnett $**p < 0,01$

5 DISKUSSION

Diese Studie zeigt eine signifikante und vergleichbare Reduktion der Gesamtkörper-Insulinsensitivität durch eine orale Fettgabe, eine i.v. Fettapplikation sowie durch die Gabe von LPS. Dieser Effekt wird während der i.v. Fettgabe am ehesten über den Anstieg der FFA-Spiegel vermittelt, während nach der LPS-Applikation sowohl eine Inflamationsreaktion als auch ein Anstieg der FFA beteiligt sind. Nach oraler Fettgabe sind keine systemischen Entzündungsprozesse beteiligt, möglicherweise spielen hier andere FFA-assoziierte Effekte eine Rolle.

5.1 Insulinsensitivität

Durch alle drei Interventionen (Fett i.v., Fett oral und LPS) konnte eine Reduktion der Gesamtkörper-Insulinsensitivität (M-Wert) in vergleichbarem Ausmaß erreicht werden. Während die gemessene Insulinsensitivität innerhalb des Kontrollversuchs in dem Bereich von gesunden normalgewichtigen Probanden oder Sportlern liegt (95), wird der M-Wert durch jede der drei Interventionen um ca. 50% reduziert und ist vergleichbar mit der Gesamtkörper-Insulinsensitivität von Übergewichtigen.

Frühere Studien konnten keine oder nur eine geringe Reduktion der Gesamtkörper-Insulinsensitivität nach einer oralen Fettgabe zeigen. Dies ist im Wesentlichen darauf zurückzuführen, dass die Intervention entweder über mehrere Stunden oder sogar Wochen durchgeführt wurde, oder komplexe Mahlzeiten verwendet wurden, die neben Fetten auch Kohlenhydrate und/oder Proteine enthielten, so dass die Effekt der einzelnen Makronährstoffe sowie deren Interaktionen nicht zu differenzieren waren (159-161). Eine weitere Interventionsstudie fand nach stündlicher oraler Einnahme einer Fettlösung unterschiedlicher Zusammensetzung über einen Zeitraum von 12 Stunden und nachfolgendem hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp im Abstand von 24 Stunden zur letzten oralen Gabe eine Reduktion der Glukoseinfusionsrate lediglich nach Gabe der Fettlösung aus mehrfach ungesättigten Fettsäuren (78%), aber nicht nach einer Lösung reich an einfach ungesättigten oder gesättigten Fettsäuren (162). Dieser Unterschied kann auf der unterschiedlichen Zeitraum der orale Gabe (12 Std. vs. einmalige Gabe) ebenso wie

auf dem größeren Zeitabstand des Clamps nach der letzten oralen Fettgabe als in der vorliegenden Studie (12 Std. vs. 6 Std.) beruhen. Zudem ist davon auszugehen, dass durch diese Unterschiede andere systemische Spiegel an freien Fettsäuren erreicht werden, die mit differenten Auswirkungen einhergehen.

Zudem konnte durch die intravenöse Lipidgabe eine Reduktion der hepatischen Insulinsensitivität (gemessen an der endogenen Glukoseproduktion) nachgewiesen werden, während nach den beiden anderen Interventionen nur ein Trend zu einer reduzierten hepatischen Insulinempfindlichkeit zu beobachten war. Die untersuchte Probandenzahl, deren Daten im Rahmen dieser Dissertation verwendet wurden, ist jedoch zu klein, um hier eine abschließende Aussage treffen zu können.

Über einen Zeitraum von 5 Tagen beeinflusste eine hyperkalorische Diät mit 60%igem Fettanteil, aber auch Kohlenhydrat- und Proteinzufuhr den hepatischen Glukosestoffwechsel im Sinne einer Erhöhung der EGP im nüchternen Zustand und einer Reduktion der hepatischen Insulinsensitivität (159). Diese gemischte Mahlzeit erlaubt aber noch keinen Rückschluss auf den Effekt einer oralen Fettgabe per se. Darüber hinaus könnte die intravenöse Gabe von Glycerol als äquivalente Kontrolle zur gesteigerten Glycerolzufuhr durch die intravenöse Fettgabe die Glukoneogenese stimuliert haben und dadurch die Insulinsuppression vermindert haben (163). Außerdem können bei der Fettgabe die unterschiedlichen Applikationswege einen entscheidenden Einfluss ausüben. Die orale Gabe des Fettes führt als einzige zu einer gesteigerten Sekretion von Inkretinen. Die hierdurch stimulierte Insulinfreisetzung führt vor allen Dingen zu erhöhten Insulinspiegeln in der Pfortader und an der Leber. Diese reagiert besonders sensibel auf geringe Änderungen der portalen Insulinkonzentration und Änderungen der hepatischen Glukoseproduktion könnten so maskiert worden sein (110). Zudem stimulieren Inkretine die Aktivität der membranständigen Lipoprotein-Lipase im Fettgewebe (164). Dadurch wird die Freisetzung sowie die Aufnahme von freien Fettsäuren (FFA) aus den Chylomikronen gesteigert und der sogenannte „Spillover“, der Übertritt der FFA ins Blut, vermindert. Dies könnte erklären, dass es zu keinem Anstieg der FFA im Plasma kommt, allerdings im Rahmen der erweiterten Studie ein Anstieg der Chylomikronen zu beobachten ist (153).

Im Rahmen verschiedener Studien wurde bereits gezeigt, dass die reduzierte Glukoseaufnahme nach Lipidinfusion nicht auf einer Substratkompetition zwischen Glukose und Lipiden bezüglich ihrer Oxidation beruht, wie Randle postulierte (103), sondern auf einer Einschränkung des Glukosetransport und -phosphorylierung beruht, die auch in einer verminderten nicht-oxidativen Glukoseverwertung in Form der Glykogenspeicherung resultiert (76, 110, 111). Dieses Konzept konnte im Rahmen der vorliegenden Studie durch die Analyse der oxidativen und nicht-oxidativen Glukoseverwertung auch auf die durch orale Fettgabe oder LPS-induzierte Insulinresistenz ausgeweitet werden (153). Ob auch die intrazellulären Mechanismen, die der reduzierten peripheren Insulinsensitivität zugrunde liegen, bei der durch oralen Fettgabe oder durch LPS-Infusion induzierten Insulinresistenz identisch sind, wurde im Rahmen der Teilstichprobe dieser Arbeit nicht untersucht, sondern im Rahmen der erweiterten Hauptstudie.

5.2 Fettstoffwechsel

Alleinig in der Gruppe der intravenösen Fettinfusion wurde eine Erhöhung der Triglyzeride und freien Fettsäuren im Plasma gefunden. Wie oben beschrieben, fand sich allerdings in der größeren Studienpopulation auch ein Anstieg der Chylomikronen nach oraler Fettgabe als Transporter der aus dem Darm resorbierten Fettsäuren. Ob die beobachtete Beeinträchtigung der Insulinsensitivität durch eine erhöhte Verfügbarkeit von freien Fettsäuren und die dadurch bedingte Akkumulation von intramyozellulären Lipiden oder einer Veränderung des Zellstoffwechsels vermittelt wird, wurde im Rahmen der erweiterten Studie mittels Muskelbiospien untersucht (153). Hier fand sich eine Aktivierung der membranständigen Proteinkinase C- θ (PKC θ) 5 Stunden nach Beginn der intravenösen Fettgabe sowie nach oraler Fettapplikation. Ähnliche Befunde wurden in Tiermodellen sowohl nach einer 3-wöchigen Hochfettdiät sowie 3 Stunden nach einer akuten Fettbelastung festgestellt (79, 165, 166). Beim Menschen wurden bisher andere Isoformen der PKC (II und δ , aber nicht θ) nach systemischer Lipidgabe gefunden wurde (78). Daten zum Verlauf nach einer Hochfettmahlzeit existierten bis zur vorliegenden Arbeit nicht.

Die PKC θ ist ein typisches Zielprotein der DAG, und bereits 5-6 Stunden nach systemischer Lipidgabe mit Steigerung der systemischen FFA-Spiegel fand sich sowohl bei Menschen wie im Tierversuch eine Erhöhung der intrazellulären DAG-Spiegel (78, 79, 119), die mit einer Erhöhung der PKC θ und anderer Isoformen assoziiert war (78, 114, 167). Diese Beobachtung konnte nicht in allen Studien bestätigt werden (150), und auch die Erweiterung der vorliegenden Studie fand keine Erhöhung der totalen intrazellulären DAG (153). Allerdings konnte eine Erhöhung der membranständigen C18:2-DAG nach Lipidinfusion beobachtet werden, die eine gesteigerte Zufuhr durch das infundierte Sojaöl (53% Ölsäure [C18:2]) widerspiegelt. Ähnliche Befunde wurden auch im Skelettmuskel von adipösem insulinresistenten Personen ohne vorherige Lipidinfusion gefunden (168), während andere Autoren eher die gesättigte C18:0-Subspezies für relevant halten (114). In Ratten wurde die Zeitsequenz der Ereignisse nach Infusion von Sojaöl genau untersucht, und nach einer alleinigen Steigerung der intramyozellulären Konzentrationen von C18:2-CoA innerhalb der ersten 2 Stunden folgte ein transients Anstieg der DAG-Konzentrationen (2-4 Stunden), direkt gefolgt von einem Anstieg der PKC θ Translokation (79). Eine ähnliche Zeitsequenz wurde auch durch humane Studien bestätigt (105).

Ein weiterer möglicher Weg der Beeinträchtigung der Insulinsensitivität führt über Ceramide, die vor allen nach gesteigerter Aufnahme von gesättigten Fettsäuren gefunden werden (116). Sojaöl enthält nur wenige gesättigte Fettsäuren (16%), und im Einklang mit diesem Befund fand sich in der erweiterten Studie sowohl nach Fettgabe wie auch nach LPS-Applikation keine Veränderung der intramyozellulären Ceramidspiegel (153), was durch zumindest einige weitere humane und tierexperimentelle Studien bestätigt wird (78, 79, 150). Trotzdem ist ein transients Anstieg der Ceramide letztlich nicht ausgeschlossen.

5.3 Stress und Entzündung

Während nach einer Fettgabe keine erkennbare Inflamationsreaktion zu beobachten war, führte die LPS-Infusion, wie bereits in vorangegangenen Studien gezeigt (169), zu einem Anstieg einiger systemischer Entzündungsmarker (z.B. TNF α , IL-6), die unter anderem mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung einer Insulinresistenz und Typ 2 Diabetes verbunden sind (55, 133, 147, 149). Zudem konnte im darauffolgenden Clamp-Test die

vorher nur vermutete Insulinresistenz eindeutig nachgewiesen werden, deren Ausmaß vergleichbar war mit der durch Fettgabe induzierten Insulinresistenz. Die systemische Entzündungsreaktion nach LPS-Infusion war begleitet durch eine milde klinische Reaktion mit Anstieg der Herzfrequenz und Temperatur, deren Dosisabhängigkeit in früheren Untersuchungen bereits gezeigt wurde (157). Die Höhe der induzierten Spiegel an proinflammatorischen Entzündungsmarkern war vergleichbar mit einer kombinierten Lipid- und LPS-Infusion (152). Darüber hinaus konnte in der vorliegenden Arbeit auch ein Anstieg des anti-inflammatorischen Zytokins IL-1RA sowie des Cortisols nachgewiesen werden, deren Einfluss auf die Reduktion der Insulinsensitivität nicht klar eruierbar ist. Zwar führte die LPS-Applikation auch zu einem transienten Anstieg der FFA im Plasma mit vergleichbaren Spiegeln wie nach intravenöser Lipidinfusion für etwa 2 Stunden. Diese FFA-Erhöhung war in der weiterführenden Studie nicht mit einer Erhöhung der intramyozellulären DAG oder PKC-Aktivierung verbunden (153), was nahelegt, dass diese Wege im Rahmen der LPS-induzierten Insulinresistenz keine oder nur eine untergeordnete Rolle spielen. Möglicherweise tragen die FFA zu einer Verstärkung der inflammationsassoziierten Aktivierung von NFκB sowie JNK bei (153). Darüber hinaus könnte eine Verminderung des Blutflusses insbesondere in den kleinen Kapillargefäßen, wie sie in einem Entzündungsmodell in der Maus beobachtet wurde, zu einer Reduktion der Insulinsensitivität nach LPS-Applikation beigetragen haben (170).

Zusammenfassend zeigte die vorliegende Arbeit, dass auch eine orale Fettbelastung zu einer raschen Induktion einer Insulinresistenz bei gesunden Probanden am ehesten über FFA-vermittelte Mechanismen führt, und dass eine systemische Inflammationsreaktion ausschließlich bei der LPS-induzierten Insulinresistenz, nicht aber bei der oralen Fettbelastung eine Rolle spielt.

Literaturverzeichnis

- (1) W.Kerner, J.Brückel, B.O.Böhm. **Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus / Evidenzbasierte Leitlinie DDG (2004)** *Diabetologie und Stoffwechsel*, 8:S104-S107
- (2) Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. **Global prevalence of diabetes - Estimates for the year 2000 and projections for 2030 (2004)** *Diabetes Care*, 27:1047-1053
- (3) Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. **IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030 (2011)** *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94:311-321
- (4) Rathmann W, Haastert B, Icks A et al. **High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: Target populations for efficient screening. The KORA survey 2000 (2003)** *Diabetologia*, 46:182-189
- (5) **Diabetes mellitus. Faktenblatt zu GEDA 2012: Ergebnisse der Studie "Gesundheit in Deutschland aktuell 2012". 2014.** RKI, Berlin, Robert Koch-Institut .
- (6) Schipf S, Werner A, Tamayo T et al. **Regional differences in the prevalence of known Type 2 diabetes mellitus in 45-74 years old individuals: results from six population-based studies in Germany (DIAB-CORE Consortium) (2012)** *Diabetic Medicine*, 29:e88-95
- (7) Heidemann C, Du Y, Schubert I, Rathmann W, Scheidt-Nave C. **Prävalenz und zeitliche Entwicklung des bekannten Diabetes mellitus (2013)** *Bundesgesundheitsblatt* 2013, 56:668-677
- (8) Hauner H, Koster I, von Ferber L. **[Prevalence of diabetes mellitus in Germany 1998-2001. Secondary data analysis of a health insurance sample of the AOK in Hesse/KV in Hesse] (2003)** *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 128:2632-2637
- (9) Stock SA, Redaelli M, Wendland G, Civello D, Lauterbach KW. **Diabetes--prevalence and cost of illness in Germany: a study evaluating data from the statutory health insurance in Germany (2006)** *Diabetic Medicine*, 23:299-305
- (10) Collins R, Armitage J, Parish S, Sleight P, Peto R. **MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol-lowering with simvastatin in 5963 people with diabetes: a randomised placebo-controlled trial (2003)** *Lancet*, 361:2005-2016
- (11) Haffner SM, Lehto S, Ronnemaa T, Pyorala K, Laakso M. **Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects**

- with and without prior myocardial infarction** (1998) *New England Journal of Medicine*, 339:229-234
- (12) Adler AI, Stevens RJ, Manley SE et al. **Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64)** (2003) *Kidney International*, 63:225-232
- (13) Van Der Meer IM, Ruggerenti P, Remuzzi G. **The diabetic CKD patient. A major cardiovascular challenge** (2010) *Journal of Renal Care*, 36:34-46
- (14) Hasslachner C, Wolf G, Kempe P, Ritz E. **Diabetische Nephropathie** (2012) *Diabetologie und Stoffwechsel*, 7:99-102
- (15) Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. **The Stages in Diabetic Renal Disease: With Emphasis on the Stage of Incipient Diabetic Nephropathy** (1983) *Diabetes*, 32:64-78
- (16) Boulton AJM, Vinik AI, Arezzo JC et al. **Diabetic neuropathies - A statement by the American Diabetes Association** (2005) *Diabetes Care*, 28:956-962
- (17) Bloomgarden ZT. **Diabetic retinopathy and neuropathy** (2005) *Diabetes Care*, 28:963-970
- (18) Boulton AJM, Malik RA, Arezzo JC, Sosenko JM. **Diabetic somatic neuropathies** (2004) *Diabetes Care*, 27:1458-1486
- (19) Boulton AJM, Vileikyte L, Ragnarson-Tennvall G, Apelqvist J. **The global burden of diabetic foot disease** (2005) *Lancet*, 366:1719-1724
- (20) Hanel W, Ambrosch A, Lobmann R. **The diabetic feet syndrome** (2009) *Diabetologie und Stoffwechsel*, 4:R35-R49
- (21) Singh N, Armstrong D, Lipsky B. **Preventing foot ulcers in patients with diabetes** (2005) *Journal of the American Medical Association*, 293:217-228
- (22) Lobmann R. **Das diabetische Fußsyndrom** (2011) *Der Internist*, 52 (5):539-548
- (23) Boulton AJM. **The diabetic foot: grand overview, epidemiology and pathogenesis** (2008) *Diabetes-Metabolism Reviews*, 24 (Suppl 1):3-6
- (24) Armstrong D, Lavery L, Harkless L. **Validation of a diabetic wound classification system. The contribution of depth, infection and ischemia to risk of amputation** (1998) *Diabetes Care*, 21:855-859
- (25) Bratuschmarrain PR, Komjati M, Waldhausl W. **Pulsatile Insulin Delivery - Physiology and Clinical Implications** (1987) *Diabetic Medicine*, 4:197-200

- (26) Eaton RP, Allen RC, Schade DS. **Hepatic Removal of Insulin in Normal Man - Dose-Response to Endogenous Insulin-Secretion** (1983) *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 56:1294-1300
- (27) Orahilly S, Turner RC, Matthews DR. **Impaired Pulsatile Secretion of Insulin in Relatives of Patients with Non-Insulin-Dependent Diabetes** (1988) *New England Journal of Medicine*, 318:1225-1230
- (28) Sonnenberg GE, Hoffman RG, Mueller RA, Kissebah AH. **Splanchnic Insulin Dynamics and Secretion Pulsatilities in Abdominal Obesity** (1994) *Diabetes*, 43:468-477
- (29) Omeara NM, Sturis J, VanCauter E, Polonsky KS. **Lack of Control by Glucose of Ultradian Insulin Secretory Oscillations in Impaired Glucose-Tolerance and in Non-Insulin-Dependent Diabetes-Mellitus** (1993) *Journal of Clinical Investigation*, 92:262-271
- (30) Schmitz O, Porksen N, Nyholm B et al. **Evidence of disorderly and nonstationary insulin secretion in relatives of patients with NIDDM** (1996) *Diabetes*, 45:890
- (31) Porksen N, Nyholm B, Veldhuis JD, Butler PC, Schmitz O. **In humans at least 75% of insulin secretion arises from punctuated insulin secretory bursts** (1997) *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 273:E908-E914
- (32) Schmitz O, Rungby J, Edge L, Juhl CB. **On high-frequency insulin oscillations** (2008) *Ageing Research Reviews*, 7:301-305
- (33) Ward GM, Walters JM, Aitken PM, Best JD, Alford FP. **Effects of Prolonged Pulsatile Hyperinsulinemia in Humans - Enhancement of Insulin Sensitivity** (1990) *Diabetes*, 39:501-507
- (34) Newsholme P, Keane D, Welters HJ, Morgan NG. **Life and death decisions of the pancreatic beta-cell: the role of fatty acids** (2007) *Clinical Science*, 112:27-42
- (35) Deeney JT, Gromada J, Hoy M et al. **Acute stimulation with long chain acyl-CoA enhances exocytosis in insulin secreting cells (HIT T-15 and NMRI beta-cells)** (2000) *Journal of Biological Chemistry*, 275:9363-9368
- (36) Robertson RP, Harmon J, Tran POT, Poitout V. **beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes** (2004) *Diabetes*, 53:S119-S124
- (37) Eitel K, Staiger H, Brendel MD et al. **Different role of saturated and unsaturated fatty acids in beta-cell apoptosis** (2002) *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 299:853-856
- (38) Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S et al. **beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes** (2003) *Diabetes*, 52:102-110

- (39) Hanley SC, Austin E, Assouline-Thomas B et al. **beta-Cell Mass Dynamics and Islet Cell Plasticity in Human Type 2 Diabetes** (2010) *Endocrinology*, 151:1462-1472
- (40) Mohlke KL, Boehnke M. **Recent advances in understanding the genetic architecture of type 2 diabetes** (2015) *Human Molecular Genetics*, 15:R85-92
- (41) Winer N, Sowers JR. **Epidemiology of diabetes** (2004) *Journal of Clinical Pharmacology*, 44:397-405
- (42) Herder C. **Genetische Studien zum Typ-2-Diabetes** (2010) *Der Diabetologe*, 6:203-209
- (43) Cauchi S, Meyre D, Durand E et al. **Post Genome-Wide Association Studies of Novel Genes Associated with Type 2 Diabetes Show Gene-Gene Interaction and High Predictive Value** (2008) *Plos One*, 3
- (44) Herder C, Roden M. **Genetics of type 2 diabetes: pathophysiologic and clinical relevance** (2011) *European Journal of Clinical Investigation*, 41:679-692
- (45) Grant SFA, Thorleifsson G, Reynisdottir I et al. **Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes** (2006) *Nature Genetics*, 38:320-323
- (46) Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. **Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy** (2005) *Lancet*, 365:1333-1346
- (47) Florez JC, Jablonski KA, Bayley N et al. **TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program** (2006) *New England Journal of Medicine*, 355:241-250
- (48) Matveyenko AV, Butler PC. **Relationship between beta-cell mass and diabetes onset** (2008) *Diabetes Obesity & Metabolism*, 10:23-31
- (49) Berson SA, Yalow RS. **Insulin antagonists and insulin resistance**. New York: 1970.
- (50) Ferrannini E. **Insulin resistance versus beta-cell dysfunction in the pathogenesis of type 2 diabetes** (2009) *Current Diabetes Reports*, 9:188-189
- (51) Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. **Insulin sensitivity: modulation by nutrients and inflammation** (2008) *Journal of Clinical Investigation*, 118:2992-3002
- (52) Morino K, Petersen KF, Shulman GI. **Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction** (2006) *Diabetes*, 55:S9-S15
- (53) Kyrou I, Tsigos C. **Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism** (2009) *Current Opinion in Pharmacology*, 9:787-793

- (54) Kelley DE, He J, Menshikova EV, Ritov VB. **Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes** (2002) *Diabetes*, 51:2944-2950
- (55) Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. **Adipose Expression of Tumor-Necrosis-Factor-Alpha - Direct Role in Obesity-Linked Insulin Resistance** (1993) *Science*, 259:87-91
- (56) King DS, Dalsky GP, Staten MA et al. **Insulin Action and Secretion in Endurance-Trained and Untrained Humans** (1987) *Journal of Applied Physiology*, 63:2247-2252
- (57) Manson JE, Rimm EB, Stampfer MJ et al. **Physical-Activity and Incidence of Non-Insulin-Dependent Diabetes-Mellitus in Women** (1991) *Lancet*, 338:774-778
- (58) Sanz C, Gautier J, Hanaire H. **Physical exercise for the prevention and treatment of type 2 diabetes** (2010) *Diabetes and Metabolism*, 36:346-351
- (59) Umpierre D, Ribeiro P, Kramer C et al. **Physical activity advice only or structured exercise training and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis** (2011) *Journal of the American Medical Association*, 305:1790-1799
- (60) Dela F, Larsen JJ, Mikines KJ et al. **Insulin-Stimulated Muscle Glucose Clearance in Patients with Niddm - Effects of One-Legged Physical-Training** (1995) *Diabetes*, 44:1010-1020
- (61) Maarbieg S, Sylow L, Richter EA. **Current understanding of increased insulin sensitivity after exercise - emerging candidates** (2011) *Physiology (Oxf)*, 202:323-335
- (62) Roden M. **Exercise in type 2 diabetes: to resist or to endure** (2012) *Diabetologia*, 55:1235-1239
- (63) Hawley JA. **Molecular responses to strength and endurance training: are they compatible?** (2009) *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 34:355-361
- (64) Szendroedi J, Phielix E, Roden M. **The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus** (2011) *Endocrinology*, 8:92-103
- (65) Phielix E, Szendroedi J, Roden M. **Mitochondrial Function and Insulin Resistance during Aging- A Mini-Review** (2011) *Gerontology*, 57:387-396
- (66) Mogensen M, Sahlin K, Fernstrom M et al. **Mitochondrial respiration is decreased in skeletal muscle of patients with type 2 diabetes** (2007) *Diabetes*, 56:1592-1599
- (67) Boushel R, Gnaiger E, Schjerling P et al. **Patients with type 2 diabetes have normal mitochondrial function in skeletal muscle** (2007) *Diabetologia*, 50:790-796

- (68) Ivy JL. **Role of exercise training in the prevention and treatment of insulin resistance and non-insulin-dependent diabetes mellitus** (1997) *Sports Medicine*, 24:323-338
- (69) Féry F. **Role of hepatic glucose production and glucose uptake in the pathogenesis of fasting hyperglycemia in type 2 diabetes: normalization of glucose kinetics by short-term fasting** (1994) *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 78:536-542
- (70) Marin P, Krotkiewski M, Andersson B, Bjorntorp P. **Muscle-Fiber Composition and Capillary Density in Women and Men with Niddm** (1994) *Diabetes Care*, 17:382-386
- (71) Ryan AS. **Insulin resistance with aging - Effects of diet and exercise** (2000) *Sports Medicine*, 30:327-346
- (72) Petersen KF, Befroy D, Dufour S et al. **Mitochondrial dysfunction in the elderly: Possible role in insulin resistance** (2003) *Science*, 300:1140-1142
- (73) Amati F, Dube JJ, Coen PM et al. **Physical Inactivity and Obesity Underlie the Insulin Resistance of Aging** (2009) *Diabetes Care*, 32:1547-1549
- (74) Crane JD, Devries MC, Safdar A, Hamadeh MJ, Tarnopolsky MA. **The Effect of Aging on Human Skeletal Muscle Mitochondrial and Intramyocellular Lipid Ultrastructure** (2010) *Journals of Gerontology Series A-Biological Sciences and Medical Sciences*, 65:119-128
- (75) Lanza IR, Short DK, Short KR et al. **Endurance Exercise as a Countermeasure for Aging** (2008) *Diabetes*, 57:2933-2942
- (76) Samuel VT, Shulman GI. **Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links** (2012) *Cell*, 148:852-871
- (77) Savage DB, Petersen KF, Shulman GI. **Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance** (2007) *Physiological Reviews*, 87:507-520
- (78) Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. **Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha** (2002) *Diabetes*, 51:2005-2011
- (79) Yu C, Chen Y, Cline GW et al. **Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle** (2002) *Journal of Biological Chemistry*, 277:50230-50236
- (80) Kramer U, Herder C, Sugiri D et al. **Traffic-related Air Pollution and Incident Type 2 Diabetes: Results from the SALIA Cohort Study** (2010) *Environmental Health Perspective*, 118:1273-1279

- (81) Sun QH, Yue P, Deiluiis JA et al. **Ambient Air Pollution Exaggerates Adipose Inflammation and Insulin Resistance in a Mouse Model of Diet-Induced Obesity** (2009) *Circulation*, 119:538-U91
- (82) Axelsen M, Smith U, Eriksson JW, Taskinen MR, Jansson PA. **Postprandial hypertriglyceridemia and insulin resistance in normoglycemic first-degree relatives of patients with type 2 diabetes** (1999) *Annals of Internal Medicine*, 131:27-31
- (83) Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M et al. **Metabolic consequences of a family history of NIDDM (The Botnia Study) - Evidence for sex-specific parental effects** (1996) *Diabetes*, 45:1585-1593
- (84) Pratipanawatr W, Pratipanawatr T, Cusi K et al. **Skeletal muscle insulin resistance in normoglycemic subjects with a strong family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin-stimulated insulin receptor substrate-1 tyrosine phosphorylation** (2001) *Diabetes*, 50:2572-2578
- (85) Ferrannini E, Mari A. **How to measure insulin sensitivity** (1998) *Journal of Hypertension*, 16:895-906
- (86) Mari A. **Mathematical modeling in glucose metabolism and insulin secretion** (2002) *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 5:495-501
- (87) Mari A, Pacini G, Brazzale AR, Ahren B. **Comparative evaluation of simple insulin sensitivity methods based on the oral glucose tolerance test** (2005) *Diabetologia*, 48:748-751
- (88) Pacini G, Mari A. **Methods for clinical assessment of insulin sensitivity and beta-cell function** (2003) *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 17:305-322
- (89) Bergman RN, Ider YZ, Bowden CR, Cobelli C. **Quantitative Estimation of Insulin Sensitivity** (1979) *American Journal of Physiology*, 236:E667-E677
- (90) Bergman RN, Prager R, Volund A, Olefsky JM. **Equivalence of the Insulin Sensitivity Index in Man Derived by the Minimal Model Method and the Euglycemic Glucose Clamp** (1987) *Journal of Clinical Investigation*, 79:790-800
- (91) Bergman RN. **Toward Physiological Understanding of Glucose-Tolerance - Minimal-Model Approach** (1989) *Diabetes*, 38:1512-1527
- (92) Ferrari P, Alleman Y, Shaw S, Riesen W, Weidmann P. **Reproducibility of Insulin Sensitivity Measured by the Minimal Model Method** (1991) *Diabetologia*, 34:527-530
- (93) Bonara E, Moghetti P, Zancanaro C et al. **Estimates of in vivo insulin action in man: comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic**

- glucose clamp studies** (1989) *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 68:374-378
- (94) Andres R, Swerdloff R, Pozefsky T, Coleman D. **Automation in Analytical Chemistry** (1966) In: *Skeggs, L T J*, 486-491
- (95) Roden M. **Clinical Diabetes Research: Methods and Techniques**. 1 ed. Jon Wiley and Sons; 2007.
- (96) Kahn CR. **Insulin Resistance, Insulin Insensitivity, and Insulin Unresponsiveness - Necessary Distinction** (1978) *Metabolism-Clinical and Experimental*, 27:1893-1902
- (97) Del Prato S. **Measurement of insulin resistance in vivo** (1999) *Drugs*, 58:3-6
- (98) Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE. **Dose-Response Characteristics for Effects of Insulin on Production and Utilization of Glucose in Man** (1981) *American Journal of Physiology*, 240:E630-E639
- (99) Bergman RN, Hope ID, Yang YJ et al. **Assessment of Insulin Sensitivity Invivo - A Critical-Review** (1989) *Diabetes-Metabolism Reviews*, 5:411-429
- (100) Steele R, Wall JS, Debodo RC, Altszuler N. **Measurement of Size and Turnover Rate of Body Glucose Pool by the Isotope Dilution Method** (1956) *American Journal of Physiology*, 187:15-24
- (101) Bokemark L, Froden A, Attvall S, Wikstrand J, Fagerberg B. **The euglycemic hyperinsulinemic clamp examination: variability and reproducibility** (2000) *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 60:27-36
- (102) Kelley DE, Mookan M, Simoneau JA, Mandarino LJ. **Interaction Between Glucose and Free Fatty-Acid Metabolism in Human Skeletal-Muscle** (1993) *Journal of Clinical Investigation*, 92:91-98
- (103) Randle PJ, Garland PB, Newsholme EA, Hales CN. **Glucose Fatty-Acid Cycle - Its Role in Insulin Sensitivity and Metabolic Disturbances of Diabetes Mellitus** (1963) *Lancet*, 1:785-&
- (104) Randle PJ. **Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: The glucose fatty acid cycle after 35 years** (1998) *Diabetes-Metabolism Reviews*, 14:263-283
- (105) Szendroedi J, Yoshimura T, Phielix E et al. **Role of diacylglycerol activation of PKC θ in lipid-induced muscle insulin resistance in humans** (2014) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111:9597-9602
- (106) Consitt LA, Bell JA, Houmard JA. **Intramuscular Lipid Metabolism, Insulin Action, and Obesity** (2009) *Iubmb Life*, 61:47-55

- (107) Brehm A, Krssak M, Schmid AI et al. **Increased lipid availability impairs insulin-stimulated ATP synthesis in human skeletal muscle** (2006) *Diabetes*, 55:136-140
- (108) Brehm A, Krssak M, Schmid AI et al. **Acute elevation of plasma lipids does not affect ATP synthesis in human skeletal muscle** (2010) *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 299:E33-E38
- (109) Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. **Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake** (1994) *Journal of Clinical Investigation*, 93:2438-2446
- (110) Roden M, Price TB, Perseghin G et al. **Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans** (1996) *Journal of Clinical Investigation*, 97:2859-2865
- (111) Roden M. **How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle** (2004) *News in Physiological Sciences*, 19:92-96
- (112) Roepstorff C, Helge JW, Vistisen B, Kiens B. **Studies of plasma membrane fatty acid-binding protein and other lipid-binding proteins in human skeletal muscle** (2004) *Proceedings of the Nutrition Society*, 63:239-244
- (113) Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE. **Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: Evidence for a paradox in endurance-trained athletes** (2001) *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86:5755-5761
- (114) Bergman BC, Hunerdosse DM, Kerege A, Playdon MC, Perreault L. **Localisation and composition of skeletal muscle diacylglycerol predicts insulin resistance in humans** (2012) *Diabetologia*, 55:1140-1150
- (115) Szendroedi J, Anderwald C, Krssak M et al. **Effects of high-dose simvastatin therapy on glucose metabolism and ectopic lipid deposition in nonobese type 2 diabetic patients** (2009) *Diabetes Care*, 32:209-214
- (116) Bikman BT, Summers SA. **Ceramides as modulators of cellular and whole-body metabolism** (2011) *Journal of Clinical Investigation*, 121:4222-4230
- (117) Ritter O, Jelenik T, Roden M. **Lipid-mediated muscle insulin resistance: different fat, different pathways?** (2015) *Journal of Molecular Medicine (Berl)*,
- (118) Shi H, Kokoeva MV, Inouye K et al. **TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance** (2006) *Journal of Clinical Investigation*, 116:3015-3025
- (119) Holland WL, Bikman BT, Wang LP et al. **Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice** (2011) *Journal of Clinical Investigation*, 121:1858-1870
- (120) Powell DJ, Turban S, Gray A, Hajduch E, Hundal HS. **Intracellular ceramide synthesis and protein kinase C ζ activation play an essential role in palmitate-**

- induced insulin resistance in rat L6 skeletal muscle cells** (2004) *Biochemical Journal*, 382:619-629
- (121) Powell DJ, Haiduch E, Kular G, Hundal HS. **Ceramide disable 3-phosphoinositide binding to the pleckstrin homology domain of protein kinase B (PKB)/Akt by a PKC ζ -dependent mechanism** (2003) *Molecular and Cellular Biology*, 23:7794-7808
- (122) Laine PS, Schwartz EA, Wang YJ et al. **Palmitic acid induces IP-10 expression in human macrophages via NF- κ B activation** (2007) *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 358:150-155
- (123) Weisberg SP, McCann D, Desai M et al. **Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue** (2003) *Journal of Clinical Investigation*, 112:1796-1808
- (124) Xu H, Barnes GT, Yang Q et al. **Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance** (2003) *Journal of Clinical Investigation*, 112:1830
- (125) Koves TR, Ussher JR, Noland RC et al. **Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance** (2008) *Cell Metabolism*, 7:45-56
- (126) Ritov VB, Menshikova EV, He J et al. **Deficiency of subsarcolemmal mitochondria in obesity and type 2 diabetes** (2005) *Diabetes*, 54:8-14
- (127) Sparks LM, Xie H, Koza RA et al. **A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle** (2005) *Diabetes*, 54:1926-1933
- (128) Coll T, Jove M, Rodriguez-Calvo R et al. **Palmitate-mediated downregulation of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α in skeletal muscle cells involves MEK1/2 and nuclear factor- κ B activation** (2006) *Diabetes*, 55:2779-2787
- (129) Martins AR, Nachbar RT, Gorjao R et al. **Mechanisms underlying skeletal muscle insulin resistance induced by fatty acids: importance of the mitochondrial function** (2012) *Lipids in Health and Disease*, 11:30
- (130) Pimenta AS, Gaidhu MP, Habib S et al. **Prolonged exposure to palmitate impairs fatty acid oxidation despite activation of AMP-activated protein kinase in skeletal muscle cells** (2008) *Journal of Cellular Physiology*, 217:478-485
- (131) Boden G, She P, Mozzoli M et al. **Free fatty acids produce insulin resistance and activate the proinflammatory nuclear factor- κ B pathway in rat liver** (2005) *Diabetes*, 54:3465

- (132) Roden M, Stingl H, Chandramouli V et al. **Effects of free fatty acid elevation on postabsorptive endogenous glucose production and gluconeogenesis in humans** (2000) *Diabetes*, 49:701-707
- (133) Kolb H, Mandrup-Poulsen T. **An immune origin of type 2 diabetes?** (vol 48, pg 1038, 2005) (2005) *Diabetologia*, 48:1677
- (134) Kolb H, Mandrup-Poulsen T. **The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation** (2010) *Diabetologia*, 53:10-20
- (135) Ghanim H, Abuaysheh S, Sia CL et al. **Increase in Plasma Endotoxin Concentrations and the Expression of Toll-like Receptors and Suppressor of Cytokine Signaling-3 in Mononuclear Cells After a High-Fat, High-Carbohydrate Meal Implications for insulin resistance** (2009) *Diabetes Care*, 32:2281-2287
- (136) Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM et al. **Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes** (2007) *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 292:E740-E747
- (137) Haubner F, Lehle K, Munzel D et al. **Hyperglycemia increases the levels of vascular cellular adhesion molecule-1 and monocyte-chemoattractant-protein-1 in the diabetic endothelial cell** (2007) *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 360:560-565
- (138) Mohanty P, Hamouda W, Garg R et al. **Glucose challenge stimulates reactive oxygen species (ROS) generation by leucocytes** (2000) *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85:2970-2973
- (139) Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, Hwang DH, Jialal I. **High Glucose Induces Toll-Like Receptor Expression in Human Monocytes Mechanism of Activation** (2008) *Diabetes*, 57:3090-3098
- (140) Berg RD. **The indigenous gastrointestinal microflora** (1996) *Trends in Microbiology*, 4:430-435
- (141) Goto T, Eden S, Nordenstam G et al. **Endotoxin Levels in Sera of Elderly Individuals** (1994) *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 1:684-688
- (142) Caradonna L, Amati L, Magrone T et al. **Enteric bacteria, lipopolysaccharides and related cytokines in inflammatory bowel disease: biological and clinical significance** (2000) *Journal of Endotoxin Research*, 6:205-214
- (143) Cani PD, Neyrinck AM, Fava F et al. **Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia** (2007) *Diabetologia*, 50:2374-2383

- (144) Poggi M, Bastelica D, Gual P et al. **C3H/HeJ mice carrying a toll-like receptor 4 mutation are protected against the development of insulin resistance in white adipose tissue in response to a high-fat diet** (2007) *Diabetologia*, 50:1267-1276
- (145) Medzhitov R. **Recognition of microorganisms and activation of the immune response** (2007) *Nature*, 449:819-826
- (146) Medzhitov R. **Toll-like receptors and innate immunity** (2001) *Nature Reviews Immunology*, 1:135-145
- (147) Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. **A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation** (2007) *American Journal of Clinical Nutrition*, 86:1286-1292
- (148) Andreassen AS, Krabbe KS, Krogh-Madsen R et al. **Human Endotoxemia as a model of systemic inflammation** (2008) *Current Medicinal Chemistry*, 15:1697-1705
- (149) Hotamisligil GS, Murray DL, Choy LN, Spiegelman BM. **Tumor-Necrosis-Factor-Alpha Inhibits Signaling from the Insulin-Receptor** (1994) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91:4854-4858
- (150) Hoeg LD, Sjoberg KA, Jeppesen J et al. **Lipid-induced insulin resistance affects women less than men and is not accompanied by inflammation or impaired proximal insulin signaling** (2011) *Diabetes*, 60:64-73
- (151) Nappo F, Esposito K, Cioffi M et al. **Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: Role of fat and carbohydrate meals** (2002) *Journal of the American College of Cardiology*, 39:1145-1150
- (152) Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Akerstrom T et al. **Effect of short-term intralipid infusion on the immune response during low-dose endotoxemia in humans** (2008) *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294:E371-E379
- (153) Nowotny B, Zahiragic L, Krog D et al. **Mechanisms underlying the onset of oral lipid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans** (2013) *Diabetes*, 62:2240-2248
- (154) Kovar FM, Marsik C, Jilma B et al. **The fibrinogen-148 C/T polymorphism influences inflammatory response in experimental endotoxemia in vivo** (2007) *Thrombosis Research*, 120:727-731
- (155) Kovar FM, Marsik C, Cvitko T et al. **The tumor necrosis factor alpha-308 G/A polymorphism does not influence inflammation and coagulation response in human endotoxemia** (2007) *Shock*, 27:238-241

- (156) Marsik C, Sunder-Plassmann R, Jilma B et al. **The C-reactive protein+1444C/T alteration modulates the inflammation and coagulation response in human endotoxemia** (2006) *Clinical Chemistry*, 52:1952-1957
- (157) Suffredini AF, Hochstein HD, McMahon FG. **Dose-related inflammatory effects of intravenous endotoxin in humans: evaluation of a new clinical lot of Escherichia coli O:113 endotoxin** (1999) *Journal of Infectious Diseases*, 179:1278-1282
- (158) Frayn KN. **Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange** (1983) *Journal of Applied Physiology*, 55:628-634
- (159) Brons C, Jensen CB, Storgaard H et al. **Impact of short-term high-fat feeding on glucose and insulin metabolism in young healthy men** (2009) *Journal of Physics*, 587:2387-2397
- (160) Galgani JE, Uauy RD, Aguirre CA, Diaz EO. **Effect of the dietary fat quality on insulin sensitivity** (2008) *British Journal of Nutrition*, 100:471-479
- (161) Lopez S, Bermudez B, Ortega A et al. **Effects of meals rich in either monounsaturated or saturated fat on lipid concentrations and on insulin secretion and action in subjects with high fasting triglyceride concentrations** (2011) *American Journal of Clinical Nutrition*, 93:494-499
- (162) Xiao C, Giacca A, Carpentier A, Lewis GF. **Differential effects of monounsaturated, polyunsaturated and saturated fat ingestion on glucose-stimulated insulin secretion, sensitivity and clearance in overweight and obese, non-diabetic humans** (2006) *Diabetologia*, 49:1371-1379
- (163) Stingl H, Krssak M, Krebs M et al. **Lipid-dependent control of hepatic glycogen stores in healthy humans** (2001) *Diabetologia*, 44:48-54
- (164) Kim SJ, Nian C, McIntosh CH. **GIP increases human adipocyte LPL expression through CREB and TORC2-mediated trans-activation of the LPL gene** (2010) *Journal of Lipid Research*, 51:3145-3157
- (165) Bell KS, Schmitz-Peiffer C, Lim-Fraser M et al. **Acute reversal of lipid-induced muscle insulin resistance is associated with rapid alteration in PKC-theta localization** (2000) *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 279:E1196-E1201
- (166) Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW et al. **Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade** (1999) *Diabetes*, 48:1270-1274
- (167) Lee HY, Choi CS, Birkenfeld AL et al. **Targeted expression of catalase to mitochondria prevents age-associated reductions in mitochondrial function and insulin resistance** (2010) *Cell Metabolism*, 12:668-674

- (168) Amati F, Dube JJ, Alvarez-Carnero E et al. **Skeletal muscle triglycerides, diacylglycerols, and ceramides in insulin resistance: another paradox in endurance-trained athletes?** (2011) *Diabetes*, 60:2588-2597
- (169) Glass CK, Olefsky JM. **Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance** (2012) *Cell Metabolism*, 15:635-645
- (170) Mulligan KX, Morris RT, Otero YF, Wasserman DH, McGuinness OP. **Disassociation of muscle insulin signaling and insulin-stimulated glucose uptake during endotoxemia** (2012) *Plos One*, 7:e30160
- (171) Souci SW, Fachmann W, Kraut H. **Die Zusammensetzung der Lebensmittel-Nährwert-Tabellen**. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers; 2000.

6 ANLAGEN

Raffiniertes Sojaöl				
Gesamtenergiegehalt pro 100g: 3700kJ (900 kcal)				
Enthaltene Fettsäuren				
	Einheit	Mittelwert	Schwankungsbreite	Nährstoffdichte (Quotient aus Inhaltsstoffmenge & Gesamtenergiegehalt)
Palmitinsäure	g	10,4	6,7 – 14,5	2,8 g/MJ
Stearinsäure	mg	3620	500 – 8900	978,4 mg/MJ
Arachinsäure	mg	500	100 – 900	135,1 mg/MJ
Palmitoleinsäure	mg	500		135,1 mg/MJ
Ölsäurelinolsäure	g	18,9	14,3 – 28,7	5,1 g/MJ
Linolsäure	g	53,1	36,5 – 57,8	14,4 g/MJ
Linolensäure	mg	7700	1900 – 14700	2081,1 mg/MJ

Aus (171)

Fresenius Kabi

Lipovenös® 20 %

1. Bezeichnung des Arzneimittels

Lipovenös® 20 %

**2. Verschreibungsstatus/
Apothekenpflicht**

Apothekenpflichtig

3. Zusammensetzung des Arzneimittels**3.1 Stoff- oder Indikationsgruppe**

Fettemulsion zur intravenösen Infusion

3.2 Arzneilich wirksame Bestandteile

1 Liter Emulsion enthält:

Sojabohnenöl	200,0 g
enthaltend Linolsäure	87,5–117,2 g
α-Linolensäure	9,06–22,0 g
Glycerol	25,0 g
Phospholipide aus Ei	12,0 g

[stand.: mit 75–81 %
(3-sn-Phosphatidyl)cholin]

3.3 Sonstige Bestandteile

Natriumoleat
Natriumhydroxid
Wasser für Injektionszwecke

Gesamtenergie	8400 kJ/l = 2000 kcal/l
pH-Wert	6,5–8,7
Titrationssäure	< 1 mmol HCl/l bzw. < 1 mmol NaOH/l
theor. Osmolarität	273 mosm/l

4. Anwendungsgebiete

Zur Deckung des Bedarfs an Energie und essentiellen Fettsäuren im Rahmen der parenteralen Ernährung.

5. Gegenanzeigen

- Fettstoffwechselstörungen
- gravierende hämorrhagische Diathesen
- entgleiste diabetische Stoffwechsellaage
- Schwangerschaft im ersten Trimester

Zusätzlich bei allen akuten und lebensbedrohlichen Erkrankungen wie:

- Kollaps- und Schockzustände
- frischer Herzinfarkt
- Schlaganfall
- Embolie
- Koma ungeklärter Genese.

Allgemeine Gegenanzeigen einer parenteralen Ernährung sind:

- Hypokaliämie
- Hyperhydratationszustände
- hypotone Dehydratation
- instabiler Kreislauf
- Azidosen.

Bei Patienten mit bekannter Überempfindlichkeit gegen Soja- und Eiweiße ist bei der Gabe von Lipovenös® 20 % besondere Vorsicht geboten.

Hinweis:

Die Applikation von Lipovenös® 20 % bei Neugeborenen und Säuglingen mit vorliegender Hyperbilirubinämie muß auf einer sorgfältigen Nutzen-/Risiko-Abwägung beruhen. Engmaschige Bilirubin-Kontrollen sind bei Fettinfusion unbedingt erforderlich. Gefahr eines Kernikterus!

6. Nebenwirkungen

Mögliche Frühreaktionen bei Applikation von Fettemulsionen sind:

- geringer Temperaturanstieg
- Hitze-, Kältegefühl
- Schüttelfrost
- abnormes Wärmegefühl (flush) oder Blaufärbung (Zyanose)
- Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen
- Atemnot
- Kopf-, Rücken-, Knochen-, Brust- und Lendenschmerzen
- Hypotonie, Hypertonie
- Überempfindlichkeitsreaktionen (z. B. anaphylaktoide Reaktionen, Hautausschläge)
- Priapismus (in sehr seltenen Fällen).

Treten diese Nebenwirkungen auf oder steigt der Triglyceridspiegel unter Fettinfusion über einen Wert von 3 mmol/l bei Erwachsenen bzw. 1,7 mmol/l bei Kindern, so ist die Fettinfusion zu stoppen oder ggf. die Infusion mit verringerter Dosierung fortzusetzen.

Auf ein Übersättigungssyndrom (overloading-syndrom) sollte geachtet werden. Dieses kann sich wegen genetisch bedingter, individuell verschiedener Stoffwechselverhältnisse und im Hinblick auf unterschiedliche Vorerkrankungen verschieden schnell und nach unterschiedlichen Dosen einstellen.

Das Übersättigungssyndrom zeigt folgende Symptome:

- Lebervergrößerung (Hepatomegalie) mit und ohne Gelbsucht (Ikterus)
- Veränderung bzw. Verminderung einiger Blutgerinnungsfaktoren (Blutungszeit, Gerinnungszeit, Prothrombinzeit, Thrombozytenzahl u. a.)
- Milzvergrößerung (Splenomegalie)
- Blutarmut (Anämie), Verminderung der weißen Blutzellen (Leukopenie)
- Verminderung der Blutplättchen (Thrombozytopenie)
- Blutungsneigung und Blutungen
- pathologische Leberfunktionsproben
- Hyperlipidämie
- Kopfschmerzen, Bauchschmerzen, Fieber und Müdigkeit.

7. Wechselwirkungen mit anderen Mitteln

Keine bekannt.

8. Warnhinweise

keine

9. Wichtigste Inkompatibilitäten

Inkompatibilitäten können durch den Zusatz mehrwertiger Kationen (z. B. Calcium) vor allem in Verbindung mit Heparin auftreten. Eine Mischung von Lipovenös® 20 % mit anderen Infusionslösungen, Elektrolytkonzentraten oder Pharmaka darf nur erfolgen, wenn die Kompatibilität der verwendeten Lösungen sichergestellt ist.

10. Dosierung mit Einzel- und Tagesgaben

Die Verabreichung von Lipovenös® 20 % soll gleichzeitig mit Aminosäurenlösungen und/oder Kohlenhydratlösungen erfolgen,

jedoch über getrennte Infusionssysteme und Venen. Sollte eine gemeinsame Infusion zweier Lösungen über eine gemeinsame Endstrecke (by-pass, Y-Stück) aus klinisch-ärztlichen Erwägungen erfolgen müssen, so muß die Kompatibilität beider Lösungen sichergestellt sein.

Für Neugeborene, Säuglinge und Kleinkinder:

Soweit nicht anders verordnet, 1 bis 2 g Fett pro kg KG und Tag Δ 5–10 ml Lipovenös® 20 % pro kg KG und Tag.

Bei erhöhtem Energiebedarf bis maximal 3 g Fett pro kg KG und Tag Δ 15 ml Lipovenös® 20 % pro kg KG und Tag.

Für Erwachsene:

Soweit nicht anders verordnet, 1 bis maximal 2 g Fett pro kg KG und Tag Δ 5–10 ml Lipovenös® 20 % pro kg KG und Tag.

Infusionsgeschwindigkeit:

Maximal werden 0,125 g Fett pro kg KG und Stunde Δ 0,625 ml Lipovenös® 20 % pro kg KG und Stunde infundiert. Es wird jedoch zu Beginn der parenteralen Ernährung mit Fett eine einschleichende Dosierung mit maximal 0,05 g Fett pro kg KG und Stunde empfohlen.

Bei einem Körpergewicht von 70 kg wird eine Infusion mit ca. 5 Tropfen pro Minute begonnen und nach 30 Minuten allmählich auf maximal 13 Tropfen pro Minute gesteigert.

11. Art und Dauer der Anwendung

Zur peripheren Infusion.

Vor Gebrauch schütteln!

Die Anwendung von Filtern mit einer Porengröße von 0,2 µm im Zusammenhang mit der Fettzufuhr ist nicht möglich, da Fettemulsionen diese Filter nicht passieren.

Lipovenös® 20 % wird verwendet, solange eine parenterale Ernährung erforderlich ist.

12. Notfallmaßnahmen, Symptome und Gegenmittel

Bei einer Überdosierung (Triglyceridkonzentration unter laufender Infusion über 3 mmol/l bei Erwachsenen bzw. 1,7 mmol/l bei Kindern) können die unter Punkt „Nebenwirkungen“ genannten Symptome auftreten. Die Fettinfusion ist in diesem Fall zu stoppen oder gegebenenfalls mit verringerter Dosierung fortzusetzen. Eine Unterbrechung der Fettgabe ist auch dann vorzunehmen, wenn es unter der Applikation von Lipovenös® 20 % zu einem ausgeprägten reaktiven Blutzuckeranstieg kommt. Bei massiver Überdosierung, ohne simultane Kohlenhydratzufuhr, kann eine metabolische Azidose auftreten.

Hauptsymptome und allgemeine Zeichen einer Überdosierung

Bei Applikation von Fettemulsionen kann es zu

- reaktiver Hyperglykämie, besonders in der Postaggressionsphase
- Hypertriglyceridämie
- Temperaturanstieg
- Hitze- und Kältegefühl
- Schüttelfrost

Lipovenös® 20 %

Fresenius Kabi

- „flush“ oder Zyanose
- Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen
- Atemnot
- Kopf-, Rücken-, Brust- und Lendenschmerzen kommen.

Bei Überdosierung ist in seltenen Fällen das Auftreten eines Overloading-Syndroms (s. Punkt 6. „Nebenwirkungen“) möglich, das bisher jedoch überwiegend bei Verwendung von Baumwollsaatöl beschrieben wurde.

13. Pharmakologische und toxikologische Eigenschaften, Pharmakokinetik und Bioverfügbarkeit, soweit diese Angaben für die therapeutische Verwendung erforderlich sind

13.1 Pharmakologische Eigenschaften

Lipovenös® ist eine sterile und pyrogenfreie Fettemulsion für die parenterale Ernährung. Mit Einsatz von Lipovenös® im Rahmen einer parenteralen Ernährung werden folgende therapeutische Ziele erreicht:

□ **Deckung des Energiebedarfs**

Lipovenös® hat als Fettemulsion einen hohen Brennwert (9,3 kcal/g Fett = 39 kJ/g Fett). Damit ist eine Deckung des Energiebedarfs bei gleichzeitiger geringer Flüssigkeitsbelastung möglich.

Im Rahmen einer parenteralen Ernährung werden 30–40 %, in vereinzelten Fällen bis zu 50 %, der Gesamtenergiezufuhr in Form von Fett empfohlen.

□ **Deckung des Bedarfs an essentiellen Fettsäuren**

Lipovenös® enthält durch Verwendung von Sojabohnenöl einen hohen Anteil der essentiellen Fettsäuren Linol- und Linolensäure.

13.2 Toxikologische Eigenschaften

□ **Akute Toxizität:**

Die Prüfung der akuten Toxizität von Lipovenös® an NZW-Kaninchen erbrachte eine LD₅₀ von 88 ml/kg KG und 4 h = 8,8 g Fett/kg KG und 24 h (Beobachtungszeit 24 Stunden).

Da zur Bestimmung dieser LD₅₀ eine nicht unerhebliche Flüssigkeitsmenge notwendig ist, muß die Ermittlung der LD₅₀ insgesamt als problematisch angesehen werden, denn hervorgerufene Schädigungen können auch auf Störungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes und weniger auf die Toxizität der Emulsion im eigentlichen Sinne zurückgeführt werden.

□ **Subakute und subchronische Toxizität:**

Untersuchungen zur subakuten bzw. subchronischen Toxizität für Lipovenös® wurden an drei Säugetierarten (Beagle-Hunde, Schweine, Ratten) in einer Dosierung von 2–6 g/kg KG und Tag über 12–29 Tage durchgeführt.

Bei diesen Dosierungen ergaben sich keine Veränderungen der systemischen Toleranz, klinischer, biochemischer, hämatologischer und weiterer Parameter.

□ **Teratogene Wirkung:**

Keine bekannt.

13.3 Pharmakokinetik

□ **Aufnahme und Verteilung:**

Die mit Lipovenös® infundierten Fettpartikel haben eine ähnliche Größenverteilung wie die physiologischen Chylomikronen. Erst nach hydrolytischer Spaltung der Triglyceride durch die Lipoproteinlipase (LPL) werden die freigesetzten Fettsäuren an Albumin gebunden transportiert.

Bei mittlerer bis hoher Dosierung führen intravenöse Fettgaben zu einer temporären Lipämie, die gleich der postprandialen Lipämie als „physiologisch“ gelten kann.

Der limitierende Schritt bei der Verwertung zugeführter Triglyceride ist nicht deren Spaltung in freie Fettsäuren und Glycerin, und damit die Abnahme der Triglyceridkonzentration, sondern der Transport der freien Fettsäuren in die Zelle.

Zwischen Plasmaclearance (Elimination) und Oxidationsrate besteht eine deutliche Differenz. Die Eliminationsgeschwindigkeit läßt keine Rückschlüsse auf die Oxidation zu.

Eine Spaltung der Triglyceride ohne nachfolgende Metabolisierung zeigt sich in einem Anstieg der freien Fettsäuren im Blut, der bei der empfohlenen Dosierung von Lipovenös® nicht auftritt.

□ **Metabolismus:**

Der Metabolismus parenteral zugeführter Fettpartikel verläuft in zwei Schritten:

- Serum-Elimination
- Metabolisierung.

Bei der Elimination spielt der Emulgator (bei Lipovenös® Eilecithin) eine nicht unerhebliche Rolle. Die Elimination der Lipomikronen scheint bei Verwendung von Eiphasphatiden der Chylomikronenkinetik zu entsprechen. Die Metabolisierung der zugeführten Lipomikronen geschieht durch Gewebs- bzw. Plasmalipoproteinlipasen. Ergebnis sind freie Fettsäuren, Glycerin und Phospholipide.

Für die Metabolisierung der freien Fettsäuren stehen folgende Stoffwechselwege offen:

- Aufnahme in die Fettgewebszellen, Reveresterung, Speicherung
- Aufnahme in die Leber- und Muskelzellen, Abbau über die β -Oxidation (vorwiegend in den Mitochondrien) zur Energiegewinnung
- Synthese von Triglycerid-reichen Lipoproteinen (VLDL) in der Leberzelle und Abgabe ins Plasma
- Substrat für die Synthese von biologisch hochaktiven Molekülen (Arachidonsäure-Derivate).

Glycerin wird entweder

- im Rahmen der Glykolyse zu Energie verstoffwechselt
- oder
- mit freien Fettsäuren, vor allem in der Leber, zu Triglyceriden reverestert.

Phospholipide können unverändert in Zellmembranen eingebaut werden.

14. Sonstige Hinweise

Die Serumtriglyceride sind täglich, Blutzucker, Säuren-Basen-Haushalt, Elektrolytstatus, Wasserbilanz und Blutbild in angemessenen Zeitabständen zu kontrollieren. Die Triglyceridkonzentrationen im Serum sollten unter laufender Fettinfusion bei Erwachsenen 3 mmol/l, bei Kindern 1,7 mmol/l nicht überschreiten.

Es bestehen Hinweise, daß bei Phototherapie und gleichzeitiger Verabreichung von Fettemulsionen durch die Lichteinwirkung eine Peroxidbildung in der Infusionslösung nicht völlig auszuschließen ist. Als Vorsichtsmaßnahme wird deshalb bei Neugeborenen mit dieser Therapie empfohlen, die Fettemulsion vor Lichteinwirkung zu schützen.

15. Dauer der Haltbarkeit

24 Monate

16. Besondere Lager- und Aufbewahrungshinweise

Nicht über 25 °C aufbewahren!
Vor Frost schützen!

17. Darreichungsformen und Packungsgrößen

Emulsion

Flaschen zu 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml
Anstaltspackungen zu
10 × 100 ml
10 × 250 ml
10 × 500 ml
6 × 1000 ml

18. Stand der Information

Juni 1999

19. Name oder Firma und Anschrift des pharmazeutischen Unternehmers

Fresenius Kabi Deutschland GmbH
D-61346 Bad Homburg v.d.H.
Telefon: (0 61 72) 6 08-0

Zentrale Anforderung an:

Rote Liste Service GmbH

FachInfo-Service

Postfach 11 01 71
10831 Berlin



U.S. Pharmacopeia
The Standard of Quality[®]

USP Certificate

Endotoxin LOT G3E069

No structure available

Molecular Formula

n/f

Molecular Weight

n/f

CAS Number

n/f

LABEL TEXT**Endotoxin**

10,000 USP Endotoxin Units per vial

CAUTION! Endotoxin is pyrogenic. Handle vials and their contents with extreme care to avoid contamination. This material contains polyethylene glycol, an irritant.

This vial contains 10,000 USP Endotoxin Units when used in the USP Bacterial Endotoxins Test <85>. Reconstitute the entire contents of the vial in 5 mL of LAL Reagent Water, as directed in General Chapter <85>. Use solution within 14 days. Store unopened vial and solution in a refrigerator.

FOR USE WITH SPECIFIED USP-NF TESTS • NOT FOR USE AS A DRUG • READ MSDS BEFORE USING

CAT. NO. 1235503

USP Rockville, MD

LOT G3E069

USP certifies that the USP Reference Standards Committee, in accordance with their rules and procedures, determined that this USP Reference Standard lot is suitable to assess compliance with the monograph standards for which it is specified. The critical characteristics of this lot are usually determined independently in three or more laboratories, including USP, FDA, and academic or industrial collaborators.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'L. E. Emery', is written over a horizontal line.

QA Director

Calculation Value

Unless otherwise stated on the Reference Standard label, a value of 100.0% should be used in USP or NF compendial applications for which the use of this Reference Standard is intended. Please refer to the specific Reference Standard label for further information.

Expiration

Current lots are identified in the Official USP Reference Standards catalog. In some cases, the previous lot may still be considered official. If so, it is identified in the column marked "Previous Lot/Valid Use Date." Ordinarily, the previous lot is carried in official status for about one year after the current lot enters distribution.

It is the responsibility of each user to determine that this lot is current when used. To ensure up-to-date information, USP publishes the Official USP Reference Standards Catalog, which contains official lot designations. This information is also available on the USP web site, at www.usp.org, as well as in the bimonthly subscription publication, *Pharmacopeial Forum*.

Instructions for Use

Follow the instructions in the appropriate USP or NF Monographs and General Requirements for Tests and Assays of the current *USP–NF*. In the event that instructions on the label of this lot differ from those found in the current *USP–NF*, those on the label supersede any instructions listed in Chapter <11>.

Non-Monograph Use

The suitability of this Reference Standard for use in non-compendial applications is solely the responsibility of the user.

LEGAL NOTICE

USP MAKES NO REPRESENTATION OR WARRANTY WITH RESPECT TO THE ACCURACY, COMPLETENESS, OR CURRENTNESS OF THIS CERTIFICATE; AND USP SPECIFICALLY DISCLAIMS ANY OTHER WARRANTY, EXPRESS, IMPLIED, OR STATUTORY, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. USP DOES NOT WARRANT THAT THE INFORMATION CONTAINED HEREIN MEETS THE CUSTOMER'S REQUIREMENTS. USP SHALL NOT BE LIABLE ON ACCOUNT OF ANY SUCH ERRORS OR OMISSIONS.

USP Reference Standards are not intended for use as drugs, dietary supplements, or as medical devices.
This document is not a Material Safety Data Sheet.

This certificate may not be reproduced without the express written permission of USP.

Copyright 2004 The United States Pharmacopeial Convention, Inc. All rights reserved.

Fresenius Kabi

Glycerosteril® 10 %

1. Bezeichnung des Arzneimittels

Glycerosteril® 10 %

**2. Verschreibungsstatus/
Apothekenpflicht**

Apothekenpflichtig

3. Zusammensetzung des Arzneimittels**3.1 Stoff- oder Indikationsgruppe**

Infusions- und Standardinjektionslösung

3.2 Arzneilich wirksame Bestandteile

1000 ml Infusionslösung enthalten:

Glycerol	100,0 g
Glucose-Monohydrat	27,5 g
▲ wasserfreie Glucose	25,0 g
Natriumchlorid	4,5 g
Na ⁺	77 mmol/l
Cl ⁻	77 mmol/l

3.3 Sonstige Bestandteile

Salzsäure
Wasser für Injektionszwecke
pH-Wert 3,5–5,5
Titrationsacidität < 1,0 mmol NaOH/l
theor. Osmolarität 1379 mosm/l

4. Anwendungsgebiete

Behandlung des Hirnödems

5. Gegenanzeigen

Hyperosmolares Koma, hämolytische Anämien bei herabgesetzter osmotischer Resistenz der roten Blutkörperchen (Erythrocyten), dekompensierte Herzinsuffizienz, eingeschränkte Nierenfunktion (Oligo-, Anurie), Lungenödem, allgemeine Flüssigkeitsverluste (Dehydratationszustände).

6. Nebenwirkungen

Nach Infusion von 10%igen Glycerollösungen wurden in Einzelfällen, insbesondere bei hoher Infusionsgeschwindigkeit, Hämolyse, Hämoglobinurie und Nierenversagen berichtet. Bei schneller Infusion ist das Auftreten von Hyperglykämie und Hyperosmolarität möglich, schnelle Infusion und Applikation großer Mengen von Glycerosteril® 10 % können zu einer akuten Volumenüberlastung des kardiozirkulatorischen Systems führen.

7. Wechselwirkungen mit anderen Mitteln

Keine bekannt.

8. Warnhinweise

keine

9. Wichtigste Inkompatibilitäten

Sofern Glycerosteril® 10 % andere Arzneimittel zugesetzt werden müssen, sollte das Gemisch aus mikrobiologischer Sicht sofort verwendet werden. Bei nicht sofortiger Verwendung liegen die Lagerungsdauer und die Lagerungsbedingungen vor und während der Anwendung im Verantwortungsbezug des Anwenders. Normalerweise sollte das Gemisch nicht länger als 24 Stunden bei 4–8°C gelagert werden, es sei denn, die Mischung erfolgte unter kontrollierten

und validierten aseptischen Bedingungen. Chemische und physikalische Stabilitätsdaten sind für eine Reihe von Mischungen vom Hersteller auf Anfrage erhältlich.

10. Dosierung mit Einzel- und Tagesgaben

Soweit nicht anders verordnet, maximale Infusionsgeschwindigkeit: 1,78 ml/kg KG und Stunde
▲ 125 ml/Std. bei 70 kg KG
Maximale Tagesdosis: 7,14 ml/kg KG
▲ 500 ml bei 70 kg KG.

11. Art und Dauer der Anwendung

Zur zentralvenösen Infusion (aufgrund der hohen Osmolarität).
Glycerosteril® 10 % wird angewandt, solange es die Behandlung erfordert, jedoch nicht länger als 14 Tage.

12. Notfallmaßnahmen, Symptome und Gegenmittel

Bei versehentlicher Überdosierung Absetzen der Infusion, Zufuhr von freiem Wasser, z. B. isotonische Kochsalzlösung und ggf. Gabe von Diuretika unter ständiger Kontrolle von Nierenfunktion, Laborwerten und Volumenstatus.

13. Pharmakologische und toxikologische Eigenschaften, Pharmakokinetik und Bioverfügbarkeit, soweit diese Angaben für die therapeutische Verwendung erforderlich sind

Glycerosteril® 10 % ist ein Osmotherapeutikum, dessen gewebsentwässernde Wirkung vom Molekulargewicht und der Konzentration sowie von Dosis und Infusionsgeschwindigkeit der Lösung abhängt.

Glycerosteril® 10 % enthält als osmolaren Wirkstoff 10 % Glycerol und bewirkt bei intravenöser Infusion eine Hyperosmolarität des Blutes, einen Anstieg des osmotischen Gradienten zwischen Blut und Gewebe und dadurch eine Verminderung des Wassergehaltes im ödematösen und normalen Hirngewebe. Bei Infusion von 500 ml Glycerosteril® 10 % steigt im Serum die Glycerolkonzentration auf ca. 100 mg/100 ml und die Osmolarität auf Werte zwischen 290 und 340 mosm/l an und erreicht ca. 4 Stunden nach Infusionsbeginn wieder Ausgangswerte.

Die Osmotherapie mit täglich 500 ml Glycerosteril® 10 % über 7–14 Tage bewirkt bei Patienten mit Hirnödemen unterschiedlicher Genese (akuter Hirninfarkt, Hirntumor, Schädelhirn-Trauma, neurochirurg. Eingriffe etc.) bei hinreichend intakter Bluthirnschranke eine rasche, effektive und reboundfreie Verminderung des Hirnödems und Senkung des intrakraniellen Hirndruckes und des Liquordruckes. Glycerosteril® 10 % kann, wie in verschiedenen klinischen Studien nachgewiesen wurde, somit wesentlich zur Verbesserung der neurologischen Defekte und des klinischen Zustandes von Patienten mit Hirnödemen beitragen.

Die Infusion von Glycerosteril® 10 % bewirkt eine vorübergehende Hämodilutionswirkung, ersichtlich aus der Absenkung des

Hämatokrit, des Hämoglobins, der Serum-elektrolyte sowie der Leukozyten und Thrombozyten. Neben der Osmowirkung wurde für 10 % Glycerol eine günstige Wirkung auf den cerebralen Stoffwechsel bei Hirninfarkt-Patienten (Verbesserung der oxidativen Phosphorylierung und antilipolytischen Wirkung) nachgewiesen.

Die intravasale Verweildauer von Glycerol beträgt bei rascher Infusion ca. 5 Stunden und die intravasale Halbwertszeit wird nach 2 Stunden erreicht.

Glycerol wird vorwiegend in Leber und Niere sowie in geringen Mengen auch im Hirn metabolisiert und nach initialer Phosphorylierung durch Glycerokinase zu Glycerol-3-phosphat und durch Glycerophosphat-Dehydrogenase zu Dihydroxyacetonphosphat umgesetzt und in den Glucosestoffwechsel eingeschleust.

Zudem wird Glycerol gut renal eliminiert und wirkt bei höherer Dosierung diuretisch, auch bei Patienten mit renaler Einschränkung.

Glycerol ist eine körpereigene Substanz, die in der angegebenen Dosierung ohne toxische Nebenwirkungen ist. Bei Ratten wurde nach intravenöser Dauerinfusion bis zu Dosierungen von 0,4 g Glycerol pro kg KG/h eine totale Verstoffwechselung und renale Ausscheidungsraten unter 1 % der Zufuhr nachgewiesen. Bei Überschreitung der Dosierung wurde der Steady State durch eine Zunahme der renalen Glycerol-Ausscheidung aufrechterhalten. Lediglich bei Dosierungen von 0,8 bis 1,0 g/kg KG/h, welche im unphysiologischen Bereich liegen, wurden in den Nieren Tubulus-Nekrosen mit Eiweißausfällungen im Lumen festgestellt. Mögliche toxische Effekte hyperosmolarer Lösungen, wie z. B. Hämolyse, Hämoglobinurie und Nierenversagen sind auch bei Glycerol abhängig von der Konzentration der Lösung und von der Art der Verabreichung.

Toxische Nebenwirkungen wurden bei Probanden nach intravenöser Infusion von Glycerosteril® 10 % in Dosierungen bis 1 g/kg Körpergewicht und Infusionsgeschwindigkeiten unter 5 ml/min. nicht beobachtet.

14. Sonstige Hinweise

Kontrollen des Serumionogramms und der Wasserbilanz sind erforderlich. Die Plasmaosmolarität muss kontrolliert werden.

15. Dauer der Haltbarkeit

4 Jahre

Nach einem Anwendungsgang nicht verbrauchte Infusionslösung ist zu verwerfen.

16. Besondere Lager- und Aufbewahrungshinweise

keine

17. Darreichungsformen und Packungsgrößen**Infusionslösung**

Glasflasche zu 500 ml
Anstaltspackung zu 10 x 500 ml

18. Stand der Information

Juli 2002

Fachinformation

Glycerosteril® 10 %

Fresenius Kabi

19. Name oder Firma und Anschrift
des pharmazeutischen
Unternehmers

Fresenius Kabi Deutschland GmbH
D-61346 Bad Homburg v.d.H.
Telefon: (0 61 72) 6 86-0

Zentrale Anforderung an:

Rote Liste Service GmbH

FachInfo-Service

Postfach 11 01 71
10831 Berlin

ZUSAMMENFASSUNG DER MERKMALE DES ARZNEIMITTELS

Fresenius Kabi

Isotonische Kochsalzlösung Fresenius
Infusionslösung

1. BEZEICHNUNG DES ARZNEIMITTELS

Isotonische Kochsalzlösung Fresenius
Infusionslösung

2. QUALITATIVE UND QUANTITATIVE
ZUSAMMENSETZUNG

1000 ml Lösung enthalten:

Natriumchlorid 9,0 g

Na⁺ 154 mmol/l

Cl⁻ 154 mmol/l

pH-Wert 4,5–7,0

Titrationssäuretitrität < 1 mmol NaOH/l

theor. Osmolarität 308 mosm/l

Die vollständige Auflistung der sonstigen Bestandteile siehe Abschnitt 6.1.

3. DARREICHUNGSFORM

Infusionslösung
Elektrolytlösungen, kaliumfrei

4. KLINISCHE ANGABEN

4.1 Anwendungsgebiete

Plasmaisotoner Flüssigkeitseratz bei hypotoner und isotoner Dehydratation, kurzfristiger intravasaler Volumenersatz. Als Trägerlösung für Elektrolytkonzentrate und kompatible Medikamente. Zum Befeuchten von Verbänden.

4.2 Dosierung,

Art und Dauer der Anwendung

Natriumchlorid 0,9% stellt eine sogenannte Basisselektrolytlösung dar, die u. a. zum Offenhalten der Venen, Applikation von Medikamenten sowie zur isotonen Flüssigkeitszufuhr benötigt wird. Die Dosierung richtet sich in der Regel nach dem Flüssigkeits- und Elektrolytbedarf (40 ml/kg Körpergewicht und Tag bzw. ca. 6 mmol Natrium/kg Körpergewicht und Tag). Die Größe des Natriumdefizits kann nach folgender Formel überschlagsmäßig abgeschätzt werden: $\text{Na}^+\text{-Defizit (mmol)} = (\text{Na}^+\text{-Soll} - \text{Na}^+\text{-Ist}) \times \text{kg KG} \times 0,2$ (das extrazelluläre Volumen errechnet sich aus Körpergewicht in Kilogramm $\times 0,2$).

Die maximale Infusionsgeschwindigkeit richtet sich nach der klinischen Situation.

Die maximale Tagesdosis wird vom Flüssigkeits- und Elektrolytbedarf bestimmt. Für Erwachsene gilt ein Richtwert von 3–6 mmol Natrium/kg Körpergewicht, für Kinder von 3–5 mmol/kg Körpergewicht.

Art und Dauer der Anwendung

Zur intravenösen Anwendung (Injektion/Infusion)/zur Herstellung von Parenteralia bzw. zum Befeuchten von Verbänden.

Zur Herstellung von Parenteralia:

Zum Auflösen und Verdünnen von Arzneimitteln unmittelbar vor Gebrauch. Dosierung, Anwendungsdauer und Applikationsart (intravenöse Injektion/Infusion, intramuskuläre oder subcutane Injektion) richten sich nach den entsprechenden Angaben für das verdünnte/gelöste Arzneimittel.

4.3 Gegenanzeigen

- Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff oder einen der sonstigen Bestandteile
- Hyperhydrationszustände

4.4 Besondere Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Anwendung

Isotonische Kochsalzlösung Fresenius soll nur mit Vorsicht angewendet werden bei:

- Hypokaliämie
- Hypernatriämie
- Hyperchlorämie
- Erkrankungen, die eine restriktive Natriumzufuhr gebieten (wie Herzinsuffizienz, generalisierte Ödeme, Lungenödem, Hypertonie, Eklampsie, schwere Niereninsuffizienz).

In Abhängigkeit vom zugeführten Volumen und dem Zustand des Patienten können Kontrollen des Elektrolyt- und des Flüssigkeitsstatus erforderlich sein.

4.5 Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln und sonstige Wechselwirkungen

Keine bekannt.

4.6 Schwangerschaft und Stillzeit

Gegen eine Anwendung in der Schwangerschaft und Stillzeit bestehen bei entsprechender Indikation keine Bedenken.

4.7 Auswirkungen auf die Verkehrstüchtigkeit und die Fähigkeit zum Bedienen von Maschinen

Isotonische Kochsalzlösung Fresenius hat keinen Einfluss auf die Verkehrstüchtigkeit und die Fähigkeit zum Bedienen von Maschinen.

4.8 Nebenwirkungen

Hypernatriämie und Hyperchlorämie.

Die Häufigkeit dieser Nebenwirkungen ist nicht bekannt.

4.9 Überdosierung

Bei einer Überdosierung können folgende Symptome auftreten:

Überwässerung, Hypernatriämie, Hyperchlorämie, Hyperosmolarität, Induktion einer acidotischen Stoffwechsellaage.

Therapie:

Bei Hyperhydrationszuständen als Konsequenz einer Überdosierung von Isotonischer Kochsalzlösung Fresenius ist die Flüssigkeitszufuhr abbrechen und rasch wirksame Diuretika (z. B. Furosemid) zu applizieren. Bei Auftreten einer Oligo-Anurie kann Flüssigkeitsentzug durch Hämodilution, Hämodialyse oder Hämodiafiltration notwendig werden.

5. PHARMAKOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

5.1 Pharmakodynamische Eigenschaften

Pharmakotherapeutische Gruppe: i.v. Lösungen/Elektrolyte
ATC-Code: B05BB01

Natrium ist das Hauptkation des extrazellulären Flüssigkeitsraumes und reguliert zusammen mit verschiedenen Anionen dessen Größe. Natrium und Kalium sind die Hauptträger bioelektrischer Vorgänge im Organismus.

Der Natriumgehalt und Flüssigkeitsstoffwechsel des Organismus sind eng miteinander gekoppelt. Jede vom Physiologischen abweichende Veränderung der Plas-

ma-Natriumkonzentration beeinflusst gleichzeitig den Flüssigkeitsstatus des Organismus. Unabhängig von der Serumosmolarität bedeutet ein vermehrter Natriumgehalt einen gesteigerten Flüssigkeitsgehalt bzw. ein verminderter Natriumgehalt des Organismus eine Abnahme des Körperwassers.

Der Gesamtnatriumgehalt des Organismus beträgt ca. 80 mmol/kg. Davon befinden sich ca. 97 % extrazellulär und ca. 3 % intrazellulär. Der Tagesumsatz beträgt etwa 100–180 mmol (entsprechend 1,5–2,5 mmol/kg Körpermasse).

Die Nieren sind der Hauptregulator des Natrium- und Wasserhaushalts. Im Zusammenspiel mit hormonellen Steuerungsmechanismen (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, antidiuretisches Hormon) sowie dem hypothetischen natriuretischen Hormon sind sie hauptsächlich für die Volumenkonstanz und Flüssigkeitszusammensetzung des Extrazellulärraums verantwortlich.

Eine 0,9%ige Natriumchlorid-Lösung entspricht der Plasmaosmolarität. Bei Zufuhr dieser Lösung kommt es zunächst zur Auffüllung des Interstitiums, welches ca. 2/3 des Extrazellulärraums ausmacht. Nur ca. 1/3 des zugeführten Volumens verbleibt intravasal. Die Lösung ist damit nur kurzfristig hämodynamisch wirksam.

Chlorid wird im Tubulussystem gegen Hydrogencarbonat ausgetauscht und ist auf diese Weise an der Regulation des Säuren-Basen-Haushalts beteiligt.

5.2 Pharmakokinetische Eigenschaften

Bei parenteraler Zufuhr verteilt sich Natriumchlorid im gesamten Organismus. Die Ionenkonzentration der Extrazellulärlösung wird über die Regulation der renalen Ausscheidung konstant gehalten. Die Ausscheidung über die Haut ist normalerweise gering.

5.3 Präklinische Daten zur Sicherheit

a) Akute Toxizität

Die akute Toxizität von NaCl nach Gabe (i.v., p.o., s.c.) ist sehr gering mit LD₅₀-Werten weit oberhalb der empfohlenen Dosierung einer isotonischen Natriumchloridlösung. Bei der Beurteilung der akuten Toxizität von Natriumchlorid muss beachtet werden, dass die Substanz in den Toxizitätsuntersuchungen erst bei sehr hohen Dosen oder sehr hochkonzentriert angewendet toxische Wirkungen zeigt, welche im Wesentlichen osmotisch bedingt sind.

b) Chronische Toxizität

Bei wiederholten Dosen zeigten sich im Tierversuch und beim Menschen Toxizitätswirkungen in Form von Übelkeit, Erbrechen, Diarrhö, Hypertension, Ödemen oder Inhibition der Spermatogenese. Diese Toxizitätserscheinungen traten alle erst bei Überdosierung auf.

c) Gentoxizität

Ein mutagenes Potential von NaCl wurde erst bei sehr hohen Konzentrationen gefunden, bei denen osmotische Effekte einen direkten Einfluss auf die Ergebnisse hatten. Bei isotonischen Natriumchloridlösungen wird von keinem mutagenen Risiko ausgegangen.

ZUSAMMENFASSUNG DER MERKMALE DES ARZNEIMITTELS

Isotonische Kochsalzlösung Fresenius Infusionslösung**Fresenius Kabi**

d) Reproduktionstoxizität

Nach subkutaner Injektion einer 250-fachen wässrigen Lösung von hohen Dosen von NaCl (2500 mg/kg und 1900 mg/kg) traten bei trächtigen Mäusen am Tag 10 oder 11 dosisabhängig Embryotoxizität, Wachstumsdepression und teratogene Effekte auf. Wenn NaCl in die Fruchtblase verabreicht wird, liegt die niedrigste letale Dosis, die zum Tod der Föten und Abort führt, beim Pferd und Esel (Tag 45 Trächtigkeit) bei 4800 mg Natriumchlorid.

Es wird angenommen, dass der erhöhte osmotische Druck des Embryoblutes mit den schädlichen Wirkungen auf den Fötus in Zusammenhang steht. Es wurden relativ hohe Dosen in den Versuchen verwendet. Bei einer isotonischen NaCl-Lösung liegt die NaCl Konzentration bei 0,9 %, welche der NaCl Konzentration im Blut entspricht. Deshalb sind bei dieser Konzentration keine negativen Effekte zu erwarten.

6. PHARMAZEUTISCHE ANGABEN**6.1 Liste der sonstigen Bestandteile**

Wasser für Injektionszwecke
Salzsäure 25 % (zur Einstellung des pH-Wertes)
Natriumhydroxid (zur Einstellung des pH-Wertes)

6.2 Inkompatibilitäten

Bei Zugabe von Arzneimitteln ist auf hygienisch einwandfreies Zuspitzen, gute Durchmischung und Kompatibilität zu achten. Auf keinen Fall darf Isotonische Kochsalzlösung Fresenius nach dem Zusatz von Medikamenten aufbewahrt werden.

6.3 Dauer der Haltbarkeit

Haltbarkeit des Produktes in der Originalpackung

Glasflasche (100, 250, 500 und 1000 ml): 3 Jahre

Polyethylenflasche (50, 100, 250, 500 und 1000 ml): 3 Jahre

Polypropylenflasche (50, 100, 250, 500 und 1000 ml): 3 Jahre

PVC-Beutel (250 ml): 2 Jahre

Polyolefinbeutel (**freeflex®/freeflex®+**) mit Umfolie (50 und 100 ml): 2 Jahre
Polyolefinbeutel (**freeflex®/freeflex®+**) mit Umfolie (250, 500 und 1000 ml): 3 Jahre
Polyolefinbeutel (**freeflex®/freeflex®+**) mit Umfolie (250 ml Infusionslösung in einem 500 ml **freeflex®/freeflex®+**-Beutel): 2 Jahre

Careflex®-Beutel (3000 und 5000 ml): 3 Jahre

Haltbarkeit nach Mischen mit anderen Komponenten

Chemische und physikalische Stabilität siehe Kapitel 6.6 „Hinweise für die Handhabung“.

Aus mikrobiologischer Sicht sollte das Arzneimittel unmittelbar verwendet werden, wenn Additive zugesetzt wurden. Falls dieses nicht sofort verwendet wird, ist der Anwender für die Bedingungen der Aufbewahrung bis zur Anwendung verantwortlich, die normalerweise nicht länger als 24 Stunden bei 2–8 °C dauern soll.

6.4 Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Aufbewahrung

Polyolefinbeutel (**freeflex®/freeflex®+**) mit Umfolie zu 50 ml und 100 ml:
Nicht über 25 °C lagern.

Lagerungsbedingungen des mit anderen Komponenten gemischten Arzneimittels siehe Abschnitt 6.3.

6.5 Art und Inhalt des Behältnisses

Glasflasche:
1 × 100 ml, 5 × 100 ml, 10 × 100 ml,
20 × 100 ml

1 × 250 ml, 5 × 250 ml, 10 × 250 ml
1 × 500 ml, 5 × 500 ml, 10 × 500 ml
1 × 1000 ml, 6 × 1000 ml

Polyethylenflasche:
1 × 50 ml, 10 × 50 ml
1 × 100 ml, 10 × 100 ml, 40 × 100 ml
1 × 250 ml, 10 × 250 ml, 20 × 250 ml,
30 × 250 ml
1 × 500 ml, 10 × 500 ml, 20 × 500 ml
1 × 1000 ml, 10 × 1000 ml

Polypropylenflasche:
1 × 50 ml, 10 × 50 ml
1 × 100 ml, 10 × 100 ml, 40 × 100 ml
1 × 250 ml, 10 × 250 ml, 20 × 250 ml,
30 × 250 ml
1 × 500 ml, 10 × 500 ml, 20 × 500 ml
1 × 1000 ml, 10 × 1000 ml

PVC-Beutel:
1 × 250 ml, 10 × 250 ml

Polyolefinbeutel (**freeflex®/freeflex®+**) mit Umfolie:
10 × 50 ml, 40 × 50 ml, 60 × 50 ml, 65 × 50 ml,
70 × 50 ml
10 × 100 ml, 40 × 100 ml, 50 × 100 ml,
55 × 100 ml, 60 × 100 ml
10 × 250 ml, 20 × 250 ml, 30 × 250 ml,
35 × 250 ml, 40 × 250 ml
10 × 500 ml, 15 × 500 ml, 20 × 500 ml
8 × 1000 ml, 10 × 1000 ml

Polyolefinbeutel (**freeflex®/freeflex®+**) mit Umfolie (250 ml Infusionslösung in einem 500 ml **freeflex®/freeflex®+**-Beutel):
10 × 250 ml Infusionslösung in einem 500 ml **freeflex®/freeflex®+**-Beutel
15 × 250 ml Infusionslösung in einem 500 ml **freeflex®/freeflex®+**-Beutel
20 × 250 ml Infusionslösung in einem 500 ml **freeflex®/freeflex®+**-Beutel

Careflex®-Beutel: 4 × 3000 ml, 2 × 5000 ml

Es werden möglicherweise nicht alle Packungsgrößen in den Verkehr gebracht.

6.6 Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Beseitigung und sonstige Hinweise für die Handhabung

Nicht verwenden, wenn das Behältnis beschädigt ist. Nur verwenden, wenn die Lösung klar und farblos ist.

Kompatibilität

Zur Isotonischen Kochsalzlösung Fresenius dürfen nur Arzneimittellösungen oder Lösungen zur parenteralen Ernährung zugesetzt werden, deren Kompatibilität dokumentiert wurde. Auf Anfrage können Kompatibilitätsdaten für verschiedene Zusätze sowie die Lagerungszeiten unterschiedlich zusammengesetzter Mischlösungen zur Verfügung gestellt werden.

Mischungen mit Zusätzen sind unter aseptischen Bedingungen herzustellen.

Diese konservierungsmittelfreie Lösung ist nur zur einmaligen Entnahme vorgesehen. Die Anwendung muss unmittelbar nach Öffnung des Behältnisses erfolgen. Nicht verbrauchte Reste sind zu verwerfen.

7. INHABER DER ZULASSUNG

Fresenius Kabi Deutschland GmbH
D-61346 Bad Homburg v.d.H.
Tel.: 06172-686-0

8. ZULASSUNGSNUMMER

6096595.00.00

9. DATUM DER ERTEILUNG DER ZULASSUNG/VERLÄNGERUNG DER ZULASSUNG

18. August 2004

10. STAND DER INFORMATION

Januar 2012

11. VERKAUFSABGRENZUNG

Apothekenpflichtig

Zentrale Anforderung an:

Rote Liste Service GmbH

FachInfo-Service

Postfach 11 01 71

10831 Berlin

Fresenius Kabi

Glucosteril® 20 % Infusionslösung

1. BEZEICHNUNG DES ARZNEIMITTELS

Glucosteril® 20 % Infusionslösung

2. QUALITATIVE UND QUANTITATIVE ZUSAMMENSETZUNG

1000 ml Infusionslösung enthalten:

Glucose-Monohydrat (Ph.Eur.) 220,0 g
 ± wasserfreie Glucose 200,0 g

Gesamtenergie 3360 kJ/l ± 800 kcal/l
 pH-Wert 3,0 – 5,5
 Titrationsacidität < 1 mmol NaOH/l
 theor. Osmolarität 1110 mosm/l

Die vollständige Auflistung der sonstigen Bestandteile siehe Abschnitt 6.1.

3. DARREICHUNGSFORM

Infusionslösung

4. KLINISCHE ANGABEN

4.1 Anwendungsgebiete

- Glucosezufuhr zur Energiebereitstellung
- Hypoglykämie
- Kohlenhydratkomponente in der parenteralen Ernährung

4.2 Dosierung,

Art und Dauer der Anwendung

Die allgemeinen Grundsätze für die Anwendung und Dosierung von Kohlenhydraten sowie die Richtlinien zur Flüssigkeitszufuhr sind zu beachten.

Die Dosierung richtet sich nach dem Glucosebedarf.

Soweit nicht anders verordnet gelten folgende Richtwerte:

Erwachsene (Richtwerte):**Maximale Infusionsgeschwindigkeit**

Für Glucose ist die folgende Dosierungsbeschränkung strikt einzuhalten:

0,25 g Glucose/kg KG/h ± 1,25 ml Glucosteril 20%/kg KG/h

Maximale Tagesdosis

Für Glucose ist die folgende Dosierungsbeschränkung strikt einzuhalten:

6,0 g/kg KG/24 h ± 30 ml Glucosteril 20%/kg KG/24 h

Eine Gesamtflüssigkeitszufuhr von 40 ml/kg KG/24 h sollte im Rahmen einer parenteralen Ernährung nur in Ausnahmefällen überschritten werden.

Unter normalen Stoffwechselbedingungen ist die Gesamtzufuhr von Kohlenhydraten auf 300 – 400 g/24 h zu beschränken. Die Limitierung ergibt sich aus der Ausschöpfung der möglichen Oxidationsrate. Bei Überschreiten dieser Dosis treten unerwünschte Wirkungen, z. B. eine Leberverfettung, auf.

Unter eingeschränkten Stoffwechselbedingungen, z. B. im Postaggressionsstoffwechsel, bei hypoxischen Zuständen oder Organinsuffizienz, kann die oxidative Verstoffwechselung von Glucose eingeschränkt sein, die mit Hyperglykämie und Insulinresistenz einhergeht und mit erhöhter Mortalität verbunden sein kann. Daher ist die Tageshöchstdosis auf 3 g/kg KG zu reduzieren;

ren; die individuelle Adaption der Dosierung erfordert ein adäquates Monitoring.

Bei Verabreichung von Glucosteril 20% müssen regelmäßige Blutzuckerkontrollen durchgeführt werden.

Zur Vermeidung von Überdosierungen, insbesondere bei Einsatz höher konzentrierter Lösungen, ist die Zufuhr über Infusionspumpen erforderlich.

Art der Anwendung

Zur intravenösen Infusion. Nur zur zentralvenösen Anwendung via Cava-Katheter mittels Infusionspumpe.

Dauer der Anwendung

Glucosteril 20% wird solange angewendet wie es die Indikation erfordert.

Glucosteril 20% stellt nur einen Baustein für die parenterale Ernährung dar. Für eine vollständige parenterale Ernährung ist die gleichzeitige Substitution mit Proteinbausteinen, Elektrolyten, Vitaminen, essentiellen Fettsäuren und Spurenelementen erforderlich.

4.3 Gegenanzeigen

- untherapierte Hyperglykämie
- Hypokaliämie ohne gleichzeitige Elektrolytsubstitution
- metabolische Acidose

Die Gabe von Glucosteril 20% ist mit der Zufuhr freien Wassers verbunden. Insbesondere, wenn keine begleitende Elektrolytgabe erfolgt, können sich zusätzlich folgende Gegenanzeigen ergeben:

- Hyperhydratation
- hypotone Dehydratation

4.4 Besondere Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Anwendung

Vorsicht ist geboten bei Hyperglykämie und erhöhter Serumosmolarität.

Kontrollen des Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Säuren-Basen-Status sind erforderlich.

Der Blutzuckerspiegel muss regelmäßig kontrolliert werden.

Bei starkem Anstieg der Blutglucose sollte die Infusion unterbrochen und Blutzuckerspitzen eventuell mit Insulin therapiert werden.

Die Zufuhr von Kohlenhydraten kann zur Veränderung des Kaliumspiegels im Blut führen. Daher ist eine regelmäßige Kontrolle des Kaliumspiegels bei Anwendung dieser Infusionslösung angezeigt.

Eine Glucoseintoleranz (Diabetes mellitus, Postaggressionsstoffwechsel) kann unter Glucoseinfusion zu Hyperglykämien bis hin zum hyperosmolaren Koma führen, das eine hohe Letalität aufweist. Je älter der Patient ist und je schwerer die Erkrankung bzw. ein Trauma sind, desto häufiger kommt es im Rahmen des Postaggressionsstoffwechsels zu einer Glucoseintoleranz, besonders dann, wenn zusätzlich ein bis dahin nicht erkannter Diabetes mellitus vorliegt. Bei bereits bekanntem Diabetes mellitus ist darüber hinaus eine sorgfältige Abstimmung mit der meist erforderlichen Insulintherapie vorzunehmen. Der Einsatz einer Insulintherapie, insbesondere während des Postaggressionsstoffwechsels, beinhaltet die Ge-

fahr schwerwiegender Hypoglykämien, da wegen der bestehenden Regulationsstörung häufig schnell wechselnde Blutglucosekonzentrationen auftreten können. Eine engmaschige Kontrolle der Blutglucosekonzentration ist daher erforderlich.

4.5 Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln und sonstige Wechselwirkungen

Glucosehaltige Lösungen dürfen nicht im selben Schlauchsystem mit Blutkonserven verabreicht oder zum Aufschwemmen dieser genutzt werden, da beides zu einer Pseudocagglutination führen kann.

4.6 Schwangerschaft und Stillzeit

Gegen eine Anwendung in der Schwangerschaft und Stillzeit bestehen bei entsprechender Indikation keine Bedenken.

Wird der Lösung ein Arzneimittel zugefügt, ist die Anwendung des Medikaments während der Schwangerschaft und Stillzeit separat zu berücksichtigen.

4.7 Auswirkungen auf die Verkehrstüchtigkeit und die Fähigkeit zum Bedienen von Maschinen

Glucosteril 20% hat keinen oder einen zu vernachlässigenden Einfluss auf die Verkehrstüchtigkeit und die Fähigkeit zum Bedienen von Maschinen.

4.8 Nebenwirkungen

Bei den Häufigkeitsangaben zu Nebenwirkungen werden folgende Kategorien zugrunde gelegt:

- Sehr häufig (≥ 1/10)
- Häufig (≥ 1/100 bis < 1/10)
- Gelegentlich (≥ 1/1.000 bis < 1/100)
- Selten (≥ 1/10.000 bis < 1/1.000)
- Sehr selten (< 1/10.000)
- Nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar)

Während der Glucosezufuhr können folgende Nebenwirkungen auftreten (häufig bis sehr häufig):

Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen

- Hyperglykämie

Erkrankungen der Nieren und Harnwege

- Polyurie

4.9 Überdosierung

Überdosierung kann zu Hyperglykämie, Glucosurie, Hyperosmolarität, hyperglykämischem/hyperosmolarem Koma, Überwässerung und Elektrolytstörungen führen.

Bei zu rascher Infusion kann es zur Auflösung eines hyperosmolaren Kommas kommen.

Therapie:

Die genannten Störungen können durch Reduktion der Glucosezufuhr, Insulingabe und Elektrolytzufuhr behandelt werden.

5. PHARMAKOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

5.1 Pharmakodynamische Eigenschaften

Pharmakotherapeutische Gruppe: Kohlenhydratlösung zur parenteralen Ernährung

ATC-Code: B05BA03

FACHINFORMATION

Glucosteril® 20 % Infusionslösung

Fresenius Kabi

Glucose wird als natürliches Substrat der Zellen im Organismus ubiquitär verstoffwechselt. Glucose ist unter physiologischen Bedingungen das wichtigste Energieliefernde Kohlenhydrat mit einem Brennwert von ca. 16,8 kJ bzw. 4 kcal/g.

Unter anderem sind Nervengewebe, Erythrozyten und Nierenmark obligat auf die Zufuhr von Glucose angewiesen. Der Normalwert der Glucosekonzentration im Blut wird mit 50–95 mg/100 ml bzw. 2,8–5,3 mmol/l angegeben (nüchtern).

Glucose dient einerseits dem Aufbau von Glykogen als Speicherform für Kohlenhydrate und unterliegt andererseits dem glycolytischen Abbau zu Pyruvat bzw. Lactat zur Energiegewinnung in den Zellen. Glucose dient außerdem der Aufrechterhaltung des Blutzuckerspiegels und der Biosynthese wichtiger Körperbestandteile. An der hormonellen Regulation des Blutzuckerspiegels sind im wesentlichen Insulin, Glukagon, Glucocorticoide und Catecholamine beteiligt.

Bei der Infusion verteilt sich Glucose zunächst im intravasalen Raum, um dann in den Intrazellulärraum aufgenommen zu werden.

5.2 Pharmakokinetische Eigenschaften

Glucose wird in der Glykolyse zu Pyruvat bzw. Lactat metabolisiert. Unter aeroben Bedingungen wird Pyruvat vollständig zu Kohlendioxid und Wasser oxidiert. Die Endprodukte der vollständigen Oxidation von Glucose werden über die Lunge (Kohlendioxid) und die Nieren (Wasser) eliminiert.

Beim Gesunden wird Glucose praktisch nicht renal eliminiert. In pathologischen Stoffwechselsituationen (z. B. Diabetes mellitus, Postaggressionsstoffwechsel), die mit Hyperglykämien (Glucosekonzentrationen im Blut über 120 mg/100 ml bzw. 6,7 mmol/l) einhergehen, wird bei Überschreiten der maximalen tubulären Transportkapazität (180 mg/100 ml bzw. 10 mmol/l) Glucose auch über die Nieren ausgeschieden (Glucosurie).

Voraussetzung für eine optimale Utilisation von zugeführter Glucose ist ein normaler Elektrolyt- und Säuren-Basen-Status. So kann insbesondere eine Acidose eine Einschränkung der oxidativen Verwertung anzeigen.

Es bestehen enge Wechselbeziehungen zwischen den Elektrolyten und dem Kohlenhydratstoffwechsel, davon ist besonders Kalium betroffen. Eine verstärkte Glucoseverwertung geht mit einem erhöhten Kaliumbedarf einher. Bei Nichtbeachtung dieses Zusammenhanges können erhebliche Störungen im Kaliumstoffwechsel entstehen, die u. a. zu massiven Herzrhythmusstörungen Anlass geben können.

Unter pathologischen Stoffwechselbedingungen können Glucoseverwertungsstörungen (Glucoseintoleranzen) auftreten. Dazu zählen in erster Linie der Diabetes mellitus sowie die bei sog. Stressstoffwechselzuständen (z. B. intra- und postoperativ, schwere Erkrankungen, Verletzungen) hormonell induzierte Herabsetzung der Glucosetoleranz, die auch ohne exogene Substratzufuhr zu Hyperglykämien führen können.

Hyperglykämien können – je nach Ausprägung – zu osmotisch bedingten Flüssigkeitsverlusten über die Niere mit konsekutiver hypotoner Dehydratation, hyperosmolaren Störungen bis hin zum hyperosmolaren Koma führen.

Eine übermäßige Glucosezufuhr, insbesondere im Rahmen eines Postaggressions-syndroms, kann zu einer deutlichen Verstärkung der Glucoseutilisationsstörung führen und, bedingt durch die Einschränkung der oxidativen Glucoseverwertung, zur vermehrten Umwandlung von Glucose in Fett beitragen. Dies wiederum kann u. a. mit einer gesteigerten Kohlendioxidbelastung des Organismus (Probleme bei der Entwöhnung vom Respirator) sowie vermehrter Fettinfiltration der Gewebe – insbesondere der Leber – verbunden sein.

Besonders gefährdet durch Störungen der Glucosehomöostase sind Patienten mit Schädel-Hirn-Verletzungen und Hirnödemen. Hier können bereits geringfügige Störungen der Blutglucosekonzentration und dem damit verbundenen Anstieg der Plasma(Serum)osmolarität zu einer erheblichen Verstärkung der cerebralen Schäden beitragen.

Glucosteril 20 % wird intravenös verabreicht und ist daher zu 100 % bioverfügbar.

5.3 Präklinische Daten zur Sicherheit

Aufgrund der Tatsache, dass Glucose ein natürlich vorkommender Bestandteil des tierischen und menschlichen Plasmas ist, sind präklinische Untersuchungen dazu irrelevant.

6. PHARMAZEUTISCHE ANGABEN

6.1 Liste der sonstigen Bestandteile

- Wasser für Injektionszwecke
- Salzsäure 25 % (zur pH-Wert-Einstellung)
- Natriumhydroxid (zur pH-Wert-Einstellung)

6.2 Inkompatibilitäten

Glucosehaltige Lösungen dürfen nicht im selben Schlauchsystem mit Blutkonserven verabreicht oder zum Aufschwemmen dieser genutzt werden, da beides zu einer Pseudoagglutination führen kann.

Glucosteril 20 % darf nur mit anderen Arzneimitteln gemischt werden, wenn deren Kompatibilität dokumentiert wurde (siehe auch Abschnitt 6.6).

6.3 Dauer der Haltbarkeit

Haltbarkeit des Produktes in der Originalpackung

Durchstechflaschen (Glas), PE-Flaschen: 5 Jahre

Haltbarkeit nach Anbruch des Behältnisses

Angebrochene Behältnisse sind zum sofortigen Verbrauch bestimmt.

Nach einem Anwendungsgang nicht verbrauchte Lösung ist zu verwerfen.

Haltbarkeit nach Mischen mit anderen Komponenten

Chemische und physikalische Stabilität siehe Abschnitt 6.6.

Aus mikrobiologischer Sicht sollte das Arzneimittel unmittelbar verwendet werden, wenn Additive zugesetzt wurden. Falls dieses nicht sofort verwendet wird, ist der Anwender für die Bedingungen der Aufbewahrung bis zur Anwendung verantwortlich, die normalerweise nicht länger als 24 Stunden bei 2 °C–8 °C dauern soll.

6.4 Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Aufbewahrung

Keine

6.5 Art und Inhalt des Behältnisses

Durchstechflaschen (Glas) mit 100 ml, 500 ml Inhalt
Packungen zu 20 × 100 ml, 10 × 500 ml Inhalt

PE-Flaschen mit 500 ml Inhalt
Packungen zu 10 × 500 ml, 20 × 500 ml Inhalt

6.6 Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Beseitigung und sonstige Hinweise für die Handhabung

Keine besonderen Anforderungen für die Beseitigung.

Sonstige Hinweise zur Anwendung:

Nicht verwenden, wenn das Behältnis beschädigt ist. Nur verwenden, wenn die Glucoselösung klar und farblos bis leicht gelblich ist.

Glucosteril 20 % ist mit einem sterilen Infusionsbesteck zu verwenden.

Kompatibilität

Glucosteril 20 % dürfen nur Arzneimittellösungen oder Lösungen zugesetzt werden, deren Kompatibilität dokumentiert wurde (siehe Abschnitt 6.2). Bei der Zugabe von Arzneimitteln ist auf hygienisch einwandfreies Zuspitzen und gute Durchmischung zu achten.

Auf Anfrage können Kompatibilitätsdaten für verschiedene Zusätze sowie die Lagerungszeiten unterschiedlich zusammengesetzter Mischlösungen zur Verfügung gestellt werden.

7. INHABER DER ZULASSUNG

Fresenius Kabi Deutschland GmbH
D-61346 Bad Homburg
Tel.-Nr.: +49 6172 686 8200
Fax-Nr.: +49 6172 686 8239
e-mail: Kundenberatung@fresenius-kabi.de

8. ZULASSUNGSNUMMER

6072666.0200

9. DATUM DER ERTEILUNG DER ZULASSUNG/VERLÄNGERUNG DER ZULASSUNG

12.05.2000/05.09.2012

10. STAND DER INFORMATION

November 2012

11. VERKAUFSGABGRENZUNG

Verschreibungspflichtig

FACHINFORMATION

Insuman® Rapid 40 I.E./ml Injektionslösung
in einer **Durchstechflasche**

SANOFI 

Mischen von Insulinen

Insuman Rapid darf nicht mit Humaninsulinzubereitungen gemischt werden, die speziell für die Verwendung in Insulinpumpen bestimmt sind.
Insuman Rapid darf auch nicht mit tierischen Insulinen oder mit Insulinanaloga gemischt werden.
Insuline unterschiedlicher Konzentration (z. B. 100 I.E. pro ml und 40 I.E. pro ml) dürfen nicht gemischt werden.

Es ist darauf zu achten, dass weder Alkohol noch andere Desinfektionsmittel in die Insulinlösung gelangen.

6.3 Dauer der Haltbarkeit

2 Jahre.

Dauer der Haltbarkeit nach der ersten Verwendung der Durchstechflasche:

Das Arzneimittel kann maximal 4 Wochen lang bei einer Temperatur von nicht über 25 °C, vor direkter Hitzeeinwirkung und Licht geschützt, aufbewahrt werden.
Die Durchstechflasche im Umkarton aufbewahren, um den Inhalt vor Licht zu schützen.
Es empfiehlt sich, das Datum der ersten Verwendung der Durchstechflasche auf dem Etikett zu vermerken.

6.4 Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Aufbewahrung

Nicht angebrochene Durchstechflaschen:
Im Kühlschrank lagern (2 °C–8 °C).
Nicht einfrieren.
Legen Sie Insuman Rapid nicht in die Nähe des Gefrierfachs oder eines Kühlelements.
Die Durchstechflasche im Umkarton aufbewahren, um den Inhalt vor Licht zu schützen.

Angebrochene Durchstechflaschen:
Hinweise zur Aufbewahrung des Arzneimittels nach der ersten Verwendung siehe Abschnitt 6.3.

6.5 Art und Inhalt des Behältnisses

10 ml Lösung in einer Durchstechflasche (farbloses Glas, Typ 1) mit einer Bördelkappe (Aluminium), einem Stopfen (Chlorbutylgummi [Typ 1]) und einem Abreißdeckel (Polypropylen).
Es sind Packungen mit 1 und 5 Durchstechflaschen verfügbar.
Es werden möglicherweise nicht alle Packungsgrößen in den Verkehr gebracht.

6.6 Besondere Vorsichtsmaßnahmen für die Beseitigung und sonstige Hinweise zur Handhabung

Vor der ersten Entnahme von Insulin wird die Sicherheits-Plastikkappe entfernt.

Nicht heftig schütteln, da dies zu Schaumbildung führen kann. Schaum kann das Aufziehen der richtigen Dosis erschweren.

Insuman Rapid darf nur verwendet werden, wenn die Lösung klar, farblos, ohne sichtbare Partikel und von wasserartiger Konsistenz ist.

Insuman Rapid darf weder in externen oder implantierten Insulinpumpen noch in Peristaltikpumpen mit Silikonschläuchen eingesetzt werden.

Es ist zu berücksichtigen, dass neutrale Normalinsuline bei pH-Werten von etwa 4,5 bis 6,5 ausfallen.

Die Bezeichnung des Insulins muss stets vor jeder Injektion überprüft werden, um Verwechslungen zwischen Insulin human und anderen Insulinen zu vermeiden (siehe Abschnitt 4.4).

Mischen von Insulinen

Insuman Rapid kann mit allen Humaninsulinzubereitungen gemischt werden außer mit solchen, die speziell für den Einsatz in Insulinpumpen bestimmt sind. Hinsichtlich der Inkompatibilität mit anderen Insulinen siehe Abschnitt 6.2.

Müssen zwei verschiedene Insuline in eine einzige Injektionsspritze aufgezogen werden, so empfiehlt es sich, das kürzer wirkende Insulin zuerst aufzuziehen, um zu vermeiden, dass lang wirkendes Insulin in die Durchstechflasche mit dem kurz wirkenden gelangt. Es ist ratsam, die Injektion unmittelbar nach dem Mischen vorzunehmen.

Nicht verwendetes Arzneimittel oder Abfallmaterial ist entsprechend den nationalen Anforderungen zu entsorgen.

7. INHABER DER ZULASSUNG

Sanofi-Aventis Deutschland GmbH,
D-65926 Frankfurt am Main, Deutschland

8. ZULASSUNGSNUMMER(N)

EU/1/97/030/031
EU/1/97/030/032

9. DATUM DER ERTEILUNG DER ZULASSUNG/VERLÄNGERUNG DER ZULASSUNG

Datum der Erteilung der Zulassung:
21. Februar 1997
Datum der letzten Verlängerung:
21. Februar 2007

10. STAND DER INFORMATION

Dezember 2013

Ausführliche Informationen zu diesem Arzneimittel sind auf den Internetseiten der Europäischen Arzneimittel-Agentur <http://www.ema.europa.eu/> verfügbar.

VERKAUFSABGRENZUNG

Deutschland
Verschreibungspflichtig.

Österreich
Rezept- und apothekenpflichtig.

Für weitere Informationen zu diesem Arzneimittel wenden Sie sich bitte an den Zulassungsinhaber oder den örtlichen Vertreter des Zulassungsinhabers:

Deutschland
Sanofi-Aventis Deutschland GmbH
D-65926 Frankfurt am Main

Postanschrift:
Postfach 80 08 60
D-65908 Frankfurt am Main
Telefon: +49 (0)1 80 2 22 20 10*
Telefax: +49 (0)1 80 2 22 20 11*
E-Mail: medinfo.de@sanofi.com

Österreich

sanofi-aventis GmbH
Saturn Tower
Leonard-Bernstein-Straße 10
A-1220 Wien
Telefon: +43 1 80 185-0

In Deutschland erhältliche Packungsgrößen

OP mit 5 Flaschen zu je 10 ml
KP mit 1 Flasche mit 10 ml

*0,06 €/Anruf (dt. Festnetz); max. 0,42 €/min (Mobilfunk).

Zentrale Anforderung an:

Rote Liste Service GmbH

Fachinfo-Service

Mainzer Landstraße 55
60329 Frankfurt

FACHINFORMATION



Insuman® Rapid 40 I.E./ml Injektionslösung
in einer Durchstechflasche

1. BEZEICHNUNG DES ARZNEIMITTELS

Insuman® Rapid 40 I.E./ml Injektionslösung
in einer Durchstechflasche

2. QUALITATIVE UND QUANTITATIVE ZUSAMMENSETZUNG

Jeder ml enthält 40 I.E. Insulin human (entsprechend 1,4 mg).

Jede Durchstechflasche enthält 10 ml Injektionslösung, entsprechend 400 I.E. Insulin. Eine I.E. (Internationale Einheit) entspricht 0,035 mg wasserfreiem Insulin human.

Insuman Rapid ist eine neutrale Insulinlösung (Normalinsulin).

Humaninsulin wird mittels gentechnologischer Methoden unter Verwendung von *Escherichia coli* hergestellt.

Vollständige Auflistung der sonstigen Bestandteile siehe Abschnitt 6.1.

3. DARREICHUNGSFORM

Injektionslösung in einer Durchstechflasche.

Klare, farblose Lösung.

4. KLINISCHE ANGABEN

4.1 Anwendungsgebiete

Diabetes mellitus, sofern die Behandlung mit Insulin erforderlich ist. Insuman Rapid ist auch zur Behandlung bei hyperglykämischem Koma und Ketoazidose sowie zur prä-, intra- und postoperativen Stabilisierung von Patienten mit Diabetes mellitus geeignet.

4.2 Dosierung und Art der Anwendung

Dosierung

Die angestrebten Blutglukosespiegel, die zu verwendenden Insulinzubereitungen und das Insulindosierschema (Menge und Applikationszeitpunkte) sind individuell festzulegen und auf die Ernährung des Patienten, seine körperliche Aktivität und seine Lebensweise abzustimmen.

Tagesdosis und Zeitpunkt der Anwendung

Es gibt keine festen Regeln für das Insulindosierschema. Der durchschnittliche Insulinbedarf liegt jedoch oft bei 0,5 bis 1,0 I.E. pro kg Körpergewicht pro Tag. Der basale Stoffwechselbedarf liegt dabei bei 40 bis 60 % des Tagesbedarfes. Insuman Rapid wird 15 bis 20 Minuten vor einer Mahlzeit subkutan injiziert.

Vor allem bei der Behandlung einer schweren Hyperglykämie oder Ketoazidose ist die Insulinverabreichung Teil eines komplexen Therapieschemas, das Maßnahmen zum Schutz der Patienten vor möglichen ernststen Komplikationen einer relativ raschen Senkung des Blutzuckers beinhaltet. Dieses Therapieschema erfordert eine enge Überwachung (metabolischer Status, Säure-Basen- und Elektrolyt-Status, Vitalparameter usw.) in einer Intensivstation oder ähnlichen Einrichtung.

Sekundäre Dosisanpassung

Infolge einer verbesserten Stoffwechsellaage kann die Insulinempfindlichkeit zu- und der Insulinbedarf abnehmen. Eine Dosisanpassung kann auch dann notwendig werden, wenn sich z. B.

- das Gewicht des Patienten ändert,
- die Lebensweise des Patienten ändert,
- andere Umstände ergeben, die eine verstärkte Neigung zu Hypo- oder Hyperglykämie bedingen (siehe Abschnitt 4.4).

Besondere Patientengruppen

Ältere Patienten (≥ 65 Jahre)

Bei älteren Patienten kann eine fortschreitende Verschlechterung der Nierenfunktion zu einer stetigen Abnahme des Insulinbedarfs führen.

Eingeschränkte Nierenfunktion

Bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion kann der Insulinbedarf infolge des verminderten Insulinabbaus verringert sein.

Eingeschränkte Leberfunktion

Bei Patienten mit schwerer Einschränkung der Leberfunktion kann der Insulinbedarf aufgrund der reduzierten Kapazität zur Glukoneogenese und des verringerten Insulinabbaus vermindert sein.

Art der Anwendung

Insuman Rapid darf weder in externen oder implantierten Insulinpumpen noch in Peristaltikpumpen mit Silikonschläuchen eingesetzt werden.

Es dürfen nur Injektionsspritzen verwendet werden, die für diese Insulinkonzentration (40 I.E. pro ml) bestimmt sind. Die Injektionsspritzen dürfen keine anderen Arzneimittel oder Arzneimittelreste (z. B. Spuren von Heparin) enthalten.

Insuman Rapid wird subkutan verabreicht.

Die Insulinresorption und folglich der blutglukosesenkende Effekt einer Dosis kann von Injektionsbereich zu Injektionsbereich (z. B. von Bauchwand zu Oberschenkel) verschieden sein. Die Injektionsstelle innerhalb eines Injektionsbereiches ist jedes Mal, d. h. von Injektion zu Injektion, zu wechseln.

Insuman Rapid kann auch intravenös verabreicht werden. Eine intravenöse Insulintherapie muss im Allgemeinen in einer Intensivstation oder unter vergleichbaren Überwachungs- und Therapiebedingungen durchgeführt werden (siehe „Tagesdosis und Zeitpunkt der Anwendung“).

Für weitere Hinweise zur Handhabung siehe Abschnitt 6.6.

4.3 Gegenanzeigen

Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff oder einen der in Abschnitt 6.1 genannten sonstigen Bestandteile.

4.4 Besondere Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für die Anwendung

Patienten, die überempfindlich auf Insuman Rapid reagieren und für die keine besser verträgliche Insulinzubereitung zur Verfügung steht, dürfen die Behandlung nur unter engmaschiger ärztlicher Überwachung und nötigenfalls gleichzeitiger antiallergischer Behandlung fortsetzen.

Bei Patienten mit einer Allergie gegen tierisches Insulin wird vor einer Umstellung auf Insuman Rapid eine intradermale Testung empfohlen, da immunologische Kreuzreaktionen auftreten können.

Bei ungenügender Stoffwechselseinstellung oder Neigung zu Hyper- oder Hypoglyk-

ämien müssen die Einhaltung des Therapie-schemas durch den Patienten, die gewählten Injektionsstellen und die korrekte Injektionstechnik sowie alle anderen relevanten Faktoren überprüft werden, bevor eine Dosisanpassung in Erwägung gezogen wird.

Umstellung auf Insuman Rapid

Die Umstellung eines Patienten auf einen anderen Insulintyp oder eine andere Insulinmarke muss unter strenger ärztlicher Überwachung erfolgen. Jede Änderung hinsichtlich Stärke, Insulinmarke (Hersteller), Insulintyp (schnell wirkend, NPH, zinkverzögert, lang wirkend usw.), Ursprung (tierisches Insulin, Humaninsulin oder Insulinanalogon) und/oder Herstellungsmethode kann eine Veränderung der Dosis erforderlich machen.

Die Notwendigkeit zur Dosisanpassung (z. B. Dosisreduktion) kann bereits unmittelbar nach der Umstellung bestehen. Sie kann sich aber auch langsam über mehrere Wochen entwickeln.

Nach Umstellung von tierischem auf Humaninsulin kann eine Anpassung des Dosierschemas (Dosisreduktion) insbesondere bei solchen Patienten erforderlich sein,

- die bereits zuvor auf eher niedrige Blutglukosespiegel eingestellt waren,
- die eine Neigung zu Hypoglykämien haben,
- die infolge von Insulin-Antikörpern zuvor hohe Insulindosen benötigten.

Während der Umstellung und in den ersten Wochen danach wird eine engmaschige Stoffwechselüberwachung empfohlen. Bei Patienten, die infolge von Insulin-Antikörpern hohe Insulindosen benötigen, ist zu erwägen, die Umstellung unter ärztlicher Überwachung und stationären oder vergleichbaren Bedingungen vorzunehmen.

Hypoglykämie

Zur Hypoglykämie kann es kommen, wenn die Insulindosis den Insulinbedarf überschreitet.

Besondere Vorsicht sowie eine verstärkte Überwachung des Blutzuckers ist bei Patienten geboten, bei denen hypoglykämische Episoden von besonderer klinischer Bedeutung sein können, wie z. B. bei Patienten mit signifikanten Stenosen der Koronararterien oder der hirnversorgenden Blutgefäße (Risiko kardialer oder zerebraler Komplikationen bei Hypoglykämie) sowie bei Patienten mit proliferativer Retinopathie, insbesondere wenn diese nicht laserbehandelt ist (Gefahr der vorübergehenden Erblindung infolge einer Hypoglykämie).

Den Patienten muss bewusst gemacht werden, dass es Umstände gibt, bei denen die Warnsymptome einer Hypoglykämie vermindert sein können. Bei bestimmten Risikogruppen können die Warnsymptome einer Hypoglykämie verändert oder abgeschwächt sein oder ganz fehlen. Dazu zählen Patienten,

- bei denen sich die Blutzuckereinstellung deutlich verbessert hat,
- bei denen sich eine Hypoglykämie langsam entwickelt,
- die älter sind,
- die von tierischem Insulin auf Humaninsulin umgestellt worden sind,

FACHINFORMATION

Insuman® Rapid 40 I.E./ml Injektionslösung
in einer **Durchstechflasche**

SANOFI 

- bei denen eine autonome Neuropathie vorliegt,
- bei denen die Diabeteserkrankung schon lange besteht,
- die an einer psychiatrischen Erkrankung leiden,
- die gleichzeitig mit bestimmten anderen Arzneimitteln behandelt werden (siehe Abschnitt 4.5).

Diese Situationen können zu einer schweren Hypoglykämie führen (und möglicherweise zum Bewusstseinsverlust), bevor der Patient eine hypoglykämische Stoffwechselentgleisung überhaupt bemerkt.

Bei normalen oder gar erniedrigten Werten für glykosyliertes Hämoglobin muss an wiederholte unerkannte (insbesondere nächtliche) Hypoglykämien gedacht werden.

Das Einhalten des Dosier- und Diätschemas, die korrekte Insulinverabreichung und das Erkennen von Symptomen einer Hypoglykämie durch den Patienten sind von zentraler Bedeutung, um das Risiko einer Hypoglykämie zu senken. Faktoren, die zu einer Verstärkung der Hypoglykämie neigen können, müssen besonders beachtet werden und können eine Dosisanpassung erfordern. Dazu zählen:

- ein Wechsel des Injektionsgebietes,
- eine Verbesserung der Insulinempfindlichkeit (z. B. wenn Stressfaktoren entfallen),
- eine ungewohnte, stärkere oder längere körperliche Anstrengung,
- interkurrierende Erkrankungen (z. B. Erbrechen, Durchfall),
- eine unzureichende Nahrungsaufnahme,
- ausgelassene Mahlzeiten,
- Alkoholkonsum,
- bestimmte unkompensierte Störungen des endokrinen Systems (z. B. Unterfunktion der Schilddrüse, des Hypophysenvorderlappens oder Nebennierenrindeninsuffizienz),
- die gleichzeitige Gabe bestimmter anderer Arzneimittel.

Interkurrierende Erkrankungen

Interkurrierende Erkrankungen erfordern eine verstärkte Stoffwechselüberwachung. In vielen Fällen sind Ketonbestimmungen im Urin angezeigt, und häufig ist eine Anpassung der Insulindosis erforderlich. Oft ist der Insulinbedarf erhöht. Patienten mit einem Typ-1-Diabetes müssen regelmäßig zumindest kleine Mengen Kohlenhydrate zu sich nehmen, auch wenn sie nicht oder nur wenig essen können, erbrechen o. Ä., und sie dürfen das Insulin nie ganz weglassen.

Anwendungsfehler

Es wurde von Anwendungsfehlern berichtet, bei denen versehentlich andere Insumanzubereitungen oder andere Insuline verabreicht wurden. Die Bezeichnung des Insulins muss stets vor jeder Injektion überprüft werden, um Verwechslungen zwischen Insulin human und anderen Insulinen zu vermeiden.

Kombination von Insuman mit Pioglitazon

Bei der Anwendung von Pioglitazon in Kombination mit Insulin wurden Fälle von Herzinsuffizienz berichtet, insbesondere bei Patienten mit Risikofaktoren für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz. Dies muss berücksichtigt werden, wenn eine Behandlung mit

Pioglitazon zusammen mit Insuman erwogen wird. Patienten, die mit dieser Kombination behandelt werden, müssen bezüglich Anzeichen und Symptomen von Herzinsuffizienz, Gewichtszunahme und Ödemen beobachtet werden. Im Falle einer Verschlechterung der kardialen Symptomatik muss Pioglitazon abgesetzt werden.

4.5 Wechselwirkungen mit anderen Arzneimitteln und sonstige Wechselwirkungen

Eine Reihe von Substanzen beeinflusst den Glukosestoffwechsel und kann eine Dosisanpassung von Insulin human erforderlich machen.

Zu den Substanzen, die eine verstärkte Blutzuckersenkung und Hypoglykämie neigen verursachen können, gehören z. B. orale Antidiabetika, Angiotensin-Converting-Enzym-(ACE)-Hemmer, Disopyramid, Fibrat, Fluoxetin, Monoaminoxidase-(MAO-)-Hemmer, Pentoxifyllin, Propoxyphen, Salicylate und Sulfonamid-Antibiotika.

Zu den Substanzen, die den blutzuckersenkenden Effekt abschwächen können, gehören z. B. Kortikosteroide, Danazol, Diazoxid, Diuretika, Glukagon, Isoniazid, Östrogene und Progestagene (z. B. in oralen Kontrazeptiva), Phenothiazin-Abkömmlinge, Somatotropin, Sympathomimetika (z. B. Epinephrin [Adrenalin], Salbutamol, Terbutalin), Schilddrüsenhormone, Proteaseinhibitoren und atypische Antipsychotika (z. B. Olanzapin und Clozapin).

Betablocker, Clonidin, Lithiumsalze oder Alkohol können sowohl zu einer Verstärkung als auch zu einer Abschwächung der blutzuckersenkenden Wirkung von Insulin führen. Pentamidin kann eine Hypoglykämie verursachen, gelegentlich mit nachfolgender Hyperglykämie.

Zusätzlich können unter der Wirkung von Sympatholytika wie Betablocker, Clonidin, Guanethidin und Reserpin die Symptome der adrenergen Gegenregulation abgeschwächt sein oder fehlen.

4.6 Fertilität, Schwangerschaft und Stillzeit

Schwangerschaft

Für Insulin human liegen keine klinischen Daten über exponierte Schwangere vor. Insulin passiert nicht die Plazentaschranke. Bei der Anwendung in der Schwangerschaft ist Vorsicht geboten.

Für Patientinnen mit vorbestehender Diabeteserkrankung oder einem Schwangerschaftsdiabetes ist eine gute Stoffwechseleinstellung während der gesamten Schwangerschaft unbedingt erforderlich. Der Insulinbedarf kann während des ersten Trimesters abfallen und steigt in der Regel während des zweiten und dritten Trimesters wieder an. Unmittelbar nach der Entbindung fällt der Insulinbedarf rasch ab (erhöhtes Hypoglykämierisiko). Eine sorgfältige Überwachung des Blutzuckerspiegels ist daher besonders wichtig.

Stillzeit

Es sind keine Auswirkungen auf das gestillte Kind zu erwarten. Insuman Rapid kann während der Stillzeit verwendet werden. Bei

stillenden Frauen kann eine Anpassung von Insulindosis und Diät notwendig werden.

Fertilität

Es sind keine klinischen oder tierexperimentellen Daten mit Humaninsulin in Bezug auf die männliche oder weibliche Fertilität verfügbar.

4.7 Auswirkungen auf die Verkehrstüchtigkeit und die Fähigkeit zum Bedienen von Maschinen

Die Konzentrations- und Reaktionsfähigkeit des Patienten kann aufgrund einer Hypo- oder Hyperglykämie oder z. B. aufgrund von Sehstörungen beeinträchtigt sein. Dies kann in Situationen, in denen diese Fähigkeiten von besonderer Bedeutung sind (z. B. beim Autofahren oder beim Bedienen von Maschinen), ein Risiko darstellen.

Den Patienten ist zu raten, Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um Hypoglykämien beim Führen von Kraftfahrzeugen zu vermeiden. Dies ist besonders wichtig bei Patienten mit verringerter oder fehlender Wahrnehmung von Hypoglykämie-Warnsymptomen oder häufigen Hypoglykämie-Episoden. In diesen Fällen ist zu überlegen, ob das Führen eines Kraftfahrzeuges oder das Bedienen von Maschinen ratsam ist.

4.8 Nebenwirkungen

Zusammenfassung des Sicherheitsprofils

Eine Hypoglykämie, im Allgemeinen die häufigste Nebenwirkung der Insulintherapie, kann auftreten, wenn die Insulindosis den Bedarf überschreitet. Die Häufigkeit des Auftretens variiert in klinischen Studien und während der Anwendung im Markt je nach Patientenpopulation und Dosierschema. Deshalb können keine spezifischen Angaben zur Häufigkeit gemacht werden.

Tabellarische Liste der Nebenwirkungen

Nachfolgend sind die aus klinischen Studien bekannt gewordenen unerwünschten Arzneimittelwirkungen aufgelistet, gruppiert nach Systemorganklassen und geordnet nach abnehmender Häufigkeit ihres Auftretens: sehr häufig ($\geq 1/10$); häufig ($\geq 1/100$, $< 1/10$); gelegentlich ($\geq 1/1.000$, $< 1/100$); selten ($\geq 1/10.000$, $< 1/1.000$); sehr selten ($< 1/10.000$); nicht bekannt (Häufigkeit auf Grundlage der verfügbaren Daten nicht abschätzbar).

Innerhalb jeder Häufigkeitsgruppe werden die Nebenwirkungen nach abnehmendem Schweregrad angegeben.

Siehe Tabelle auf Seite 3

Beschreibung ausgewählter Nebenwirkungen

Erkrankungen des Immunsystems

Allergische Reaktionen vom Sofort-Typ auf Insulin oder einen der sonstigen Bestandteile können lebensbedrohlich sein.

Die Verabreichung von Insulin kann im Körper die Bildung von Insulin-Antikörpern auslösen. In seltenen Fällen kann das Vorhandensein solcher Insulin-Antikörper die Anpassung der Insulindosis erforderlich machen, um eine Neigung zu Hyper- oder Hypoglykämien auszugleichen.

FACHINFORMATION



Insuman® Rapid 40 I.E./ml Injektionslösung
in einer **Durchstechflasche**

MedDRA-Systemorganklassen	Häufig	Gelegentlich	Nicht bekannt
Erkrankungen des Immunsystems		Schock	allergische Reaktionen vom Sofort-Typ (Blutdruckabfall, Angioödem, Bronchospasmus, generalisierte Hautreaktionen), Insulin-Antikörper
Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen	Ödeme		Hypoglykämie, Natriumretention
Augenerkrankungen			proliferative Retinopathie, diabetische Retinopathie, Sehstörungen
Erkrankungen der Haut und des Unterhautzellgewebes			Lipodystrophie
Allgemeine Erkrankungen und Beschwerden am Verabreichungsort	Reaktionen an der Einstichsstelle	Urtikaria an der Einstichsstelle	Entzündung, Schmerz, Juckreiz, Rötung, Schwellung an der Injektionsstelle

Stoffwechsel- und Ernährungsstörungen
Schwere Hypoglykämien, insbesondere wenn sie wiederholt auftreten, können zu neurologischen Schäden führen. Anhalten- oder schwere Hypoglykämien können lebensbedrohlich sein.

Bei vielen Patienten gehen die Zeichen der adrenergen Gegenregulation denen einer Neuroglukopenie voraus. Im Allgemeinen sind diese Gegenregulation und ihre Symptome umso ausgeprägter, je stärker und schneller der Blutzuckerspiegel fällt.

Insulin kann eine Natriumretention und Ödeme verursachen, insbesondere wenn eine zuvor schlechte Stoffwechseleinstellung durch Intensivierung der Insulintherapie verbessert wird.

Augenerkrankungen

Eine deutliche Veränderung der Blutzuckereinstellung kann vorübergehende Sehstörungen verursachen, die durch eine vorübergehende Veränderung des Quellungszustandes und damit der Brechkraft der Augenlinse bedingt sind.

Eine über einen längeren Zeitraum verbesserte Blutzuckereinstellung mindert das Risiko des Fortschreitens einer diabetischen Retinopathie. Eine Intensivierung der Insulintherapie mit abrupter Verbesserung des Blutzuckerspiegels kann jedoch zu einer vorübergehenden Verschlechterung einer Retinopathie führen.

Erkrankungen der Haut und des Unterhautzellgewebes

An der Injektionsstelle kann es zu einer Lipodystrophie kommen, die die Insulinresorption im betroffenen Bereich verzögert. Ein ständiger Wechsel der Einstichstelle im gegebenen Injektionsbereich kann helfen, diese Reaktionen abzuschwächen oder zu vermeiden.

Allgemeine Erkrankungen und Beschwerden am Verabreichungsort

Die meisten leichteren Reaktionen auf Insulin an der Injektionsstelle bilden sich in der Regel innerhalb von wenigen Tagen oder Wochen zurück.

Meldung des Verdachts auf Nebenwirkungen

Die Meldung des Verdachts auf Nebenwirkungen nach der Zulassung ist von großer Wichtigkeit. Sie ermöglicht eine kontinuierliche Überwachung des Nutzen-Risiko-Verhältnisses des Arzneimittels. Angehörige von Gesundheitsberufen sind aufgefordert,

jeden Verdachtsfall einer Nebenwirkung über das aufgeführte nationale Meldesystem anzuzeigen.

Deutschland
Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
Abt. Pharmakovigilanz
Kurt-Georg-Kiesinger-Allee 3
D-53175 Bonn
Website: <http://www.bfarm.de>

Österreich
Bundesamt für Sicherheit im Gesundheitswesen
Traisengasse 5
1200 WIEN
ÖSTERREICH
Fax: +43 (0) 50 555 36207
Website: <http://www.basg.gv.at>

4.9 Überdosierung

Symptomatik

Eine Überdosierung von Insulin kann zu einer schweren, unter Umständen lang anhaltenden und lebensbedrohlichen Hypoglykämie führen.

Maßnahmen

Leichte hypoglykämische Episoden können in der Regel durch die orale Zufuhr von Kohlenhydraten ausgeglichen werden. Es kann aber auch eine Anpassung des Dosischemas, der Ess- oder Sportgewohnheiten erforderlich werden.

Schwerere Hypoglykämien mit diabetischem Koma, Krampfanfällen oder neurologischen Ausfällen können mit intramuskulären/subkutanen Glukagongaben oder intravenösen Gaben von konzentrierter Glukoselösung behandelt werden. Wiederholte Kohlenhydrataufnahme und eine Überwachung können erforderlich sein, da die Hypoglykämie nach scheinbarer klinischer Erholung wieder auftreten kann.

5. PHARMAKOLOGISCHE EIGENSCHAFTEN

5.1 Pharmakodynamische Eigenschaften

Pharmakotherapeutische Gruppe: Antidiabetika, Insuline und Analoga zur Injektion, schnell wirkend, ATC-Code: A10AB01.

Wirkungsmechanismus

Insulin

– senkt die Blutglukose und bewirkt eine Zunahme anaboler sowie eine Abnahme kataboler Stoffwechseleffekte,

- steigert den Glukosetransport in die Zellen sowie die Glykogenbildung in Muskulatur und Leber und verbessert die Pyruvatutilisation; es hemmt Glykogenolyse und Glukoneogenese,
- steigert die Lipogenese in Leber und Fettgewebe und hemmt die Lipolyse,
- steigert die Aminosäureaufnahme in Zellen und fördert die Proteinsynthese,
- fördert die Kaliumaufnahme in die Zellen.

Pharmakodynamische Wirkung

Insuman Rapid ist ein Insulin mit raschem Wirkungseintritt und kurzer Wirkdauer. Bei subkutaner Gabe beginnt die Wirkung innerhalb von 30 Minuten, liegt die Phase maximaler Wirkung 1 bis 4 Stunden nach Injektion und die Wirkdauer zwischen 7 und 9 Stunden.

5.2 Pharmakokinetische Eigenschaften

Bei Stoffwechselgesunden beträgt die Serumhalbwertszeit des Insulins etwa 4 bis 6 Minuten. Sie ist bei schwerer Niereninsuffizienz verlängert. Die Pharmakokinetik von Insulin spiegelt jedoch nicht seine Stoffwechselwirkung wider.

5.3 Präklinische Daten zur Sicherheit

Die akute Toxizität wurde nach subkutaner Gabe an Ratten untersucht. Es wurden keine Hinweise auf toxische Wirkungen gefunden. Die Prüfung der lokalen Verträglichkeit nach subkutaner und intramuskulärer Gabe bei Kaninchen ergab keine auffälligen Befunde. Bei der Untersuchung der pharmakodynamischen Effekte nach subkutaner Gabe an Kaninchen und Hunden zeigten sich die erwarteten hypoglykämischen Reaktionen.

6. PHARMAZEUTISCHE ANGABEN

6.1 Liste der sonstigen Bestandteile

Metacresol (Ph. Eur.),
Natriumdihydrogenphosphat-Dihydrat,
Glycerol,
Natriumhydroxid,
Salzsäure (zur pH-Wert-Einstellung),
Wasser für Injektionszwecke.

6.2 Inkompatibilitäten

Dieses Arzneimittel darf, außer mit den unter Abschnitt 6.6 aufgeführten, nicht mit anderen Arzneimitteln gemischt werden.

Insuman Rapid darf nicht mit Lösungen gemischt werden, die reduzierende Substanzen enthalten, wie Thiole und Sulphite.

7 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.