

Aus dem Deutschen Diabetes-Zentrum,
Leibniz-Zentrum für Diabetes-Forschung
an der der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf,
Institut für klinische Diabetologie
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. univ. Michael Roden

Vergleich der Effekte der oralen Aufnahme von gesättigten und ungesättigten Fettsäuren auf die insulinstimulierte Glukoseaufnahme bei gesunden, normalgewichtigen Menschen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Anna Christina Bönner (geb. Rauh)
Düsseldorf, 2018

Für meine Töchter

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Univ. Prof. Dr. med. univ. Michael Roden

Zweitgutachter: Prof. Dr. rer. nat. Norbert Gerdes

Zusammenfassung

Die initialen Effekte der oralen Verabreichung von Fett auf die Insulinwirkung sind bisher nicht ausreichend verstanden. Viele präklinische und klinische Studien haben gezeigt, dass die Zusammensetzung der Fettsäuren und der Anteil der gesättigten gegenüber den ungesättigten Fettsäuren möglicherweise eine wesentliche Rolle bei der Entstehung der fettinduzierten Insulinresistenz des Muskels spielen.

Die vorliegende Arbeit verfolgte die Hypothese, dass die Einmalgabe einer Fettemulsion, reich an gesättigten Fettsäuren, die Insulinsensitivität stärker reduziert als eine solche reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde eine dreiarmlige, randomisierte Cross-Over-Interventionsstudie an gesunden Probanden durchgeführt, die eine definierte Menge an Fett mit überwiegend gesättigten oder ungesättigten Fettsäuren als orale Fettemulsion erhielten. Die Insulinsensitivität des Gesamtkörpers wurde anhand des M-Wertes, jene der Leber anhand der Suppression der endogenen Glukoseproduktion und jene des Fettgewebes anhand der Suppression der freien Fettsäuren im euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamp-Test ermittelt. Desweiteren wurden zirkulierende Konzentrationen von Glukose, Insulin, Glukagon, Inkretinen, Lipiden sowie die metabolische Flexibilität und in Muskelbiopsaten die maximale mitochondriale respiratorische Kapazität gemessen.

Die orale Aufnahme beider Fettemulsionen bewirkte eine vergleichbare Zunahme des Triglyzeridgehaltes der zirkulierenden Chylomikronen. Ebenso war der Anstieg von zirkulierenden Inkretinen (GLP-1, GIP) und Glukagon vergleichbar. Die Aufnahme von gesättigten Fettsäuren führte allerdings zu einer stärkeren peripheren Insulinresistenz als jene von ungesättigten Fettsäuren. Die metabolische Flexibilität änderte sich durch Zufuhr beider Fette nicht. In Skelettmuskelbiopsien, die eine Stunde vor und zweieinhalb Stunden nach der Fettverabreichung entnommen wurden, war kein Effekt auf die maximale respiratorische Kapazität nachweisbar.

Zusammenfassend zeigten diese Untersuchungen, dass bereits eine einmalige orale Aufnahme von Fett mit einem höheren Anteil an gesättigten Fettsäuren die muskuläre Insulinsensitivität von jungen, gesunden Probanden stärker reduziert als die orale Aufnahme von Fett mit einem höheren Anteil an ungesättigten Fettsäuren. Dieser Effekt ist nicht mit Veränderungen der Mitochondrienfunktion der Muskulatur assoziiert.

Abstract

Preliminary study results indicate that peripheral insulin resistance can be induced not only by intravenous fat infusion, but also by oral fat ingestion. The exact mechanisms of fat-induced insulin resistance after oral ingestion are only incompletely understood. Additionally, there is convincing data with respect to basic (animal experiments) and clinical science (clinical controlled interventional trials), that fat composition with respect to fraction of saturated vs. unsaturated fatty acids plays a central role in peripheral insulin resistance.

Thus, the hypothesis of the present study was that bolus ingestion of saturated fatty acids reduces insulin sensitivity to a greater amount than a bolus ingestion of unsaturated fatty acids. To test this hypothesis, a randomized, placebo controlled cross-over study in healthy lean individuals was conducted. The subjects were assigned to drink a defined volume of fat emulsions with predominantly saturated or unsaturated fatty acids. Thereafter insulin sensitivity was measured. Measures of insulin sensitivity were derived from a hyperinsulinemic-euglycemic Clamp-Test: M-value for whole-body insulin sensitivity, endogenous glucose suppression for hepatic insulin sensitivity and free fatty acid suppression for adipose tissue specific insulin sensitivity. Additionally, circulating concentrations of glucose and insulin, glucagon, incretins and lipids were measured. Metabolic flexibility was tested with respirometry and maximal mitochondrial capacity of the skeletal muscle was assessed in muscle biopsies.

Oral ingestion of both emulsions led to similar increases in the triglyceride content of circulating chylomicrons. Likewise, the rise in incretins (GLP-1, GIP) and glucagon was comparable. However, ingestion of saturated fatty acids resulted in more pronounced insulin resistance than unsaturated fatty acids. Skeletal muscle biopsies, taken one hour before and 2.5 hours after fat ingestion, showed no effect on maximal respiratory capacity. In conclusion, these studies showed that even a single bolus ingestion of fat with saturated vs. unsaturated fatty acids results in greater impairment of muscle insulin sensitivity. This effect does not associate with alterations of muscle mitochondrial function.

Abkürzungsverzeichnis

Acyl-Co-A:	Acyl-Coenzym-A
AUC:	Area under the curve
BG:	Blutglukose
BIA:	Bioimpedanzmessung
BMI:	Body Mass Index
DDG:	Deutsche Diabetes Gesellschaft
DDZ:	Deutsches Diabetes Zentrum
EGIR:	European Group for the Study of Insulin Resistance
EGP:	Endogene Glukoseproduktion
EHC-Test:	Euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp-Test
EKG:	Elektrokardiogramm
ELISA:	Enzym Linked Immuno Sorbent Assay
FS:	Fettsäuren
FFS:	Freie Fettsäuren
GIP:	Glukoseabhängiges insulinotropes Polypeptide
GLP-1:	Glucagon like peptide-1
GLUT-4:	Glukosetransporter Typ 4
GLUT-2:	Glukosetransporter Typ 2
HOMA(IR):	Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance
IGT:	Impaired Glucose Tolerance
IRS:	Insulinrezeptorsubstrat
IR:	Insulinresistenz
KON:	Kontrolle (Wasser)
MCH:	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCV:	Mittleres korpuskuläres Volumen / mittleres Erythrozytenvolumen
MCHC:	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MRS:	Magnetresonanztomographie
MRT:	Magnetresonanztomographie
MUFA:	Monounsaturated fatty acids/ einfach ungesättigte Fettsäuren
OGIS:	Oral glucose insulin sensitivity index
OGTT:	Orale Glukosetoleranztest

PI3-K:	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PKB:	Proteinkinase B
PKC:	Proteinkinase C
PUFA:	Polyunsaturated fatty acids/ mehrfach ungesättigte Fettsäuren
QUICKI:	Quantitative insulin sensitivity check index
REE:	Resting energy expenditure/ Ruheenergieumsatz
RIA:	Radioimmunassay
RISC:	Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular Disease
RQ:	Respiratorischer Quotient
SAFA:	Saturated fatty acids/ gesättigte Fettsäuren
STABW:	Standardabweichung
TG:	Triglyzeride
T2DM	Typ-2-Diabetes Mellitus
UFA:	Unsaturated fatty acids/ ungesättigte Fettsäuren

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematischer Ablauf eines Studientages.	20
Abbildung 2: Ablauf und Analyse der Muskelbiopsie.	24
Abbildung 3: Versuchsaufbau zur Durchführung der indirekten Kalorimetrie.	25
Abbildung 4: Versuchsaufbau des euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamp-Tests.	26
Abbildung 5: Effekt der Interventionsarme auf Blut-Glukose und -Insulin im zeitlichen Verlauf und als Integral.	30
Abbildung 6: Effekt der Interventionsarme auf freien Fettsäuren und Chylomikronen im zeitlichen Verlauf.	31
Abbildung 7: Effekt der Interventionsarme auf die Inkretine im zeitlichen Verlauf.	32
Abbildung 8: Messung der metabolischen Flexibilität mittels Kalorimetrie in den Interventionsarmen.	32
Abbildung 9: Bestimmung der Insulinsensitivität von Muskel, Leber und Fett nach der Intervention.	33
Abbildung 10: Mitochondriale Funktion des Muskels.	34

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Interventionsstudien mit oraler Fettaufnahme beim Menschen: fettinduzierte Insulinresistenz	12
Tabelle 2: Screeningparameter aus venösen Blutentnahmen.....	17
Tabelle 3: Zusammensetzung der Interventionsemulsionen.....	20
Tabelle 4: Zusammensetzung der Infusionslösungen des EHC-Tests.	26
Tabelle 5: Charakteristika der Studienkohorte.....	28
Tabelle 6: Fettsäurezusammensetzung der Interventionsemulsionen laut Herstellerangaben	29
Tabelle 7: Korrelationsanalyse von M- Wert mit insulinstimulierter Suppression der freien Fettsäuren (FFS), der Konzentration von FFS, O2 Fluss und EGP Suppression in den Interventionsarmen SAFA und PUFA.....	35

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
1. Einleitung	1
1.1 Definition und Epidemiologie der Insulinresistenz.....	1
1.2 Insulinresistenz als Vorstufe des Typ-2-Diabetes Mellitus	2
1.3 Insulinwirkung und Pathogenese der Insulinresistenz	3
1.4 Messmethoden der Insulinsensitivität im Muskel.....	6
1.4.1 Indices zur Beschreibung der Insulinresistenz.....	6
1.4.2 Oraler Glukosetoleranztest	7
1.4.3 Euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp-Test	8
1.5 Fettinduzierte Insulinresistenz	8
1.5.1 Mechanismen der fettinduzierten Muskelinsulinresistenz.....	9
1.5.2 Effekte der intravenösen Fettgabe	10
1.5.3 Effekte der oralen Fettgabe	11
1.5.4 Rolle der Fettsäurezusammensetzung (gesättigt/ ungesättigt).....	13
2. Forschungsziele und Hypothesen	14
3. Material und Methoden	15
3.1 Studiendesign und Ablauf	15
3.2 Beschreibung der Studienkohorte	15
3.3 Probandenrekrutierung	15
3.4 Screening.....	16
3.4.1 Oraler Glukosetoleranztest	16
3.4.2 Blutabnahme	17
3.4.3 Elektrokardiogramm	18

3.4.4	Bioimpedanzmessung	18
3.5	Ablauf eines Studientages	18
3.6	Interventionen	20
3.7	Untersuchungsmethoden	21
3.7.1	Blutentnahmen	21
3.7.2	Muskelbiopsien	23
3.7.3	Indirekte Kalorimetrie	24
3.7.4	Euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp-Test	25
3.8	Statistische Auswertung	27
4.	Ergebnisse	28
4.1	Demographische und anthropometrische Charakteristika der Studienkohorte	28
4.2	Zusammensetzung der Interventionsfette	28
4.3	Vergleich der Effekte von SAFA und PUFA auf die Zielparameter	29
4.3.1	Insulin und Glukose	29
4.3.2	Parameter des Fettstoffwechsels (Chylomikronen, FFS)	30
4.3.3	Inkretine	31
4.3.4	Metabolische Flexibilität	32
4.3.5	Gewebespezifische Insulinsensitivität	33
4.3.6	Mitochondriale Funktion des Muskels	34
4.4	Korrelationen von M-Wert mit Insulin stimulierter FFS-Suppression, der Konzentration von FFS, dem O ₂ -Fluss und der EGP-Suppression in den Interventionsarmen mit SAFA und PUFA	34
5.	Diskussion	36
5.1	Zusammenfassung der Hauptbefunde	36
5.2	Einordnung der Studienbefunde in die bestehende Literatur	36
5.2.1	Interventionen, Interventionszeiträume und Probandenkollektive	36
5.2.2	Messzeitpunkte und Messmethoden der Insulinsensitivität	37

5.2.3	Einordnung der Befunde zur Insulinsensitivität von Leber und Fettgewebe nach Intervention	38
5.3	Mögliche pathophysiologische Begründung der unterschiedlichen Wirkungen von SAFA und PUFA	39
5.3.1	Chylomikronen und freie Fettsäuren	39
5.3.2	Mögliche Rolle der Mitochondrien.....	40
5.4	Stärken und Schwächen der Studie	41
5.5	Ausblick in zukünftige Forschungsfelder und Bedeutung für die Klinik	42
6.	Schlussfolgerungen	44
7.	Literatur und Quellenverzeichnis	45
8.	Anhang	55
9.	Danksagung	69

1. Einleitung

1.1 Definition und Epidemiologie der Insulinresistenz

Insulinresistenz (IR) kann definiert werden als ein reduziertes Ansprechen einer Zielzelle oder eines ganzen Organismus auf eine gegebene Konzentration des Peptidhormons Insulin (1). IR prädisponiert für die Entstehung von Prädiabetes und Typ-2-Diabetes Mellitus (T2DM) (s. Kap. 1.2) mit zahlreichen Folgeerkrankungen und steht in engem Verhältnis zum metabolischen Syndrom, der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen und zu anderen Stoffwechselerkrankungen (2-4). Die genauen Zusammenhänge sind Gegenstand aktueller Forschung wie beispielsweise in der europaweiten prospektiven Studie EGIR (European Group for the Study of Insulin Resistance) und in diesem Rahmen auch der prospektiven-EU-RISC-Studie („Relationship between Insulin Sensitivity and Cardiovascular Disease-Risc“) (5). Zudem ist die IR mit vielen weiteren Erkrankungen wie dem polyzystischen Ovarialsyndrom assoziiert (6). Verschiedene andere Faktoren wie Herkunft, Alter, Genetik und Lebensweise werden im Zusammenhang mit der Entstehung von IR diskutiert. Bezüglich der Herkunft zeigen sich bei unterschiedlichen ethnischen Gruppen Unterschiede in der Ausprägung von IR (7). Zahlreiche Studien beschreiben einen Zusammenhang zwischen dem Altern des Menschen und der Entwicklung von IR (8-11). Karakelides et al. zeigten, dass die im Alter beobachtete Reduktion der Insulinsensitivität möglicherweise Folge der altersbedingten Zunahme von Adipositas ist (12). Andererseits ergab die prospektive EGIR-Studie keine statistisch signifikante Auswirkung des chronologischen Alters auf die Entwicklung einer IR (13). Eine wichtige Rolle spielt jedoch die erbliche Prädisposition bzw. die Genetik. So zeigen beispielsweise Angehörige ersten Grades von Patienten mit T2DM und damit einhergehender IR im Vergleich zu familiär nicht vorbelasteten Personen eine erhöhte Inzidenz von IR (14). Einen wichtigen Stellenwert nimmt zudem die Lebensweise in der Entstehung von IR ein. So lässt sich eine Verknüpfung der genetischen Prädisposition mit der Lebensweise beobachten. Pima-Indianer mit einem genetisch erhöhten Risiko für IR, die in Arizona leben, zeigen mit 38% eine deutlich höhere Prävalenz an Typ-2-Diabetes als Pima-Indianer, die in Mexiko leben (6.9%) (15, 16). Dies könnte auf den bewegungsärmeren Lebensstil und die fettreichere Ernährung in den USA zurückzuführen sein. Übergewicht und vor allem dessen Anteil an viszeralem Fett sind entscheidende Faktoren bei der Entstehung von IR (17-19).

Körperliche Aktivität vermindert im Gegensatz hierzu die IR (20). Auch Medikamente wie Glukokortikoide, HIV- Therapie oder Betablocker können zur Entwicklung einer IR beitragen. Ebenso sind Insulin-Rezeptor-Antikörper und Hyperosmolarität mit einhergehender Dehydration als Auslöser einer IR im Gespräch (21). Zudem wird weiterhin die fetale Mangelernährung als ein für die Entwicklung einer IR prädisponierender Faktor diskutiert (22, 23).

1.2 Insulinresistenz als Vorstufe des Typ-2-Diabetes Mellitus

IR stellt zusammen mit der postprandial gestörten Insulin- und Glukagonsekretion und dem Untergang der β -Zellen im Pankreas den entscheidenden Faktor für die Pathogenese des T2DM dar. Die meisten der an T2DM erkrankten Personen weisen eine IR auf. Bereits Jahre vor Manifestation eines T2DM kann durch die IR eine gestörte Glukosetoleranz [IGT (impaired glucose tolerance)] bestehen, bei der der Nüchtern-Plasmaglukosewert noch im oberen Normbereich liegen kann [(Nüchtern-Plasmaglukose von ≤ 126 mg/dl ($\leq 7,0$ mmol/l)]. Durch einen oralen Glukosetoleranztest (OGTT) lassen sich jedoch bereits zu diesem Zeitpunkt von den Normalwerten abweichende Zweistundenwerte feststellen (s. Kap. 1.4.2). In der Pathogenese des T2DM besteht frühzeitig eine IR, das heißt eine herabgesetzte zelluläre Aufnahme von Glukose. Kompensatorisch kommt es anfangs zu einer gesteigerten Insulinsekretion in den β -Zellen des Pankreas mit erhöhten Insulin- und C-Peptidspiegeln im venösen Blut (Hyperinsulinismus), wodurch der Hyperglykämie zunächst entgegengewirkt wird. Nach und nach entwickelt sich ein fortschreitender sekretorischer Defekt der β -Zellen im Pankreas durch Apoptose der β -Zellen (24). Übersteigt der Bedarf an Insulin die Ausschüttungskapazität des Pankreas, manifestiert sich der T2DM in der Hyperglykämie. Nach den Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) liegt ein Diabetes Mellitus vor, wenn einer der folgenden Parameter gegeben ist: HbA1c $\geq 6,5\%$ (≥ 48 mmol/mol), Gelegenheits-Plasmaglukosewert von ≥ 200 mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/l), Nüchtern-Plasmaglukose von ≥ 126 mg/dl ($\geq 7,0$ mmol/l) oder ein OGTT-2-h-Wert im venösen Plasma ≥ 200 mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/l) (25). Die Erforschung der genauen Pathogenese der für den T2DM charakteristischen IR hat im Hinblick auf die steigende Prävalenz des T2DM, dessen makro- und mikrovaskulären Komplikationen, den damit verbundenen Folgeerkrankungen und den steigenden Kosten für die Gesundheitssysteme eine hohe Bedeutung. In Deutschland sind ca. acht Millionen Menschen an Diabetes Mellitus erkrankt. Der Anteil der Patienten mit T2DM an allen

Diabetespatienten beläuft sich auf 95% (26). In den letzten Jahrzehnten ist es zu einem drastischen Anstieg der Prävalenz des T2DM gekommen. Dies spiegelt sich auch in der repräsentativen Umfrage der Wohnbevölkerung Deutschlands. Durch die „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (DEGS1, 2008–2011) zeigte sich, dass bei 7,2% der Erwachsenen im Alter zwischen 18 und 79 Jahren (Frauen 7,4%, Männer 7,0%) ein Diabetes beschrieben worden war (27, 28). Vergleicht man hierzu die Umfrage von 1998, kann man nach Berücksichtigung der demographischen Bevölkerungsalterung von einem absoluten Prävalenzanstieg von 1,4% und einem relativen Prävalenzanstieg von bis zu 24% ausgehen. T2DM führt zu zahlreichen makrovaskulären Komplikationen wie der koronaren Herzkrankheit, der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, der arteriellen Verschlusskrankheit der Hirngefäße sowie dem ischämischen Hirninfarkt (4). Außerdem entstehen als Komplikationen diabetesspezifische mikrovaskuläre Komplikationen wie z.B. die diabetische Retinopathie, die diabetische Nephropathie und die diabetische Neuropathie (24). Zusätzlich zu den vaskulären Komplikationen ist Diabetes Mellitus assoziiert mit einem früheren Tod als Folge von Leber-, Pankreas-, Colorektal-, Ovarial-, Mamma-, Nieren-, Blasen- und Lungenkarzinomen sowie von Nieren- und Lebererkrankungen, Infektionen und degenerativen Erkrankungen. So hat beispielsweise ein 50-jähriger Diabetespatient eine um 5,8 Jahre (bei ♀ 6,4 Jahre) kürzere Lebenserwartung als ein Nichtdiabetiker im gleichen Alter (29). Bezüglich der Kosten zeigte die Krankheitskostenstudie der AOK Hessen und KV Hessen, KoDiM („Kosten des Diabetes mellitus“), dass die Anzahl der behandelten Diabetespatienten in den Jahren 2000-2009 um 31% (altersbereinigt) gestiegen ist. Bei im Mittel stabilen durchschnittlichen Pro-Kopf-Kosten erhöhten sich so durch den Anstieg der Prävalenz die Gesamtkosten, abhängig vom Berechnungssatz (mit/ohne Berücksichtigung von Altersbereinigung und Inflation), um 28% bis 70% (30). Aus diesen Zahlen und Hintergründen erklärt sich die große Bedeutung der genauen Erforschung der für den T2DM charakteristischen IR und deren Entstehungsmechanismen.

1.3 Insulinwirkung und Pathogenese der Insulinresistenz

Insulin bewirkt als essentielles anaboles Peptidhormon eine physiologische Senkung der Blutglukosekonzentration. Es stimuliert die Aufnahme von Glukose und Aminosäuren in die Zellen, den Aufbau von Energiespeichern (Glykogen, Triglyzeride) sowie das

Zellwachstum (Proteinbiosynthese) (17, 31). Zusätzlich hemmt Insulin Enzyme kataboler Stoffwechselwege und so auch die Wirkung von Hormonen wie Glukagon und Katecholaminen. Ausgeschüttet wird das Insulin von den β -Zellen des Pankreas, hauptsächlich durch einen Glukose-abhängigen Mechanismus. Jedoch finden sich auch Einflüsse von freien Fettsäuren (FFS), verzweigtkettigen Aminosäuren und Inkretinen auf die Ausschüttung von Insulin (21). Es lassen sich langsame von schnellen metabolischen Wirkungen unterscheiden. Die schnellen Stoffwechselwirkungen sind gekennzeichnet durch die Beeinflussung von vorhandenen Proteinen, wogegen sich die langsamen Wirkungen auf die Transkriptionsebene beziehen. Eine der schnellen physiologischen Wirkungen des Insulins im Muskel- und Fettgewebe ist die Steigerung der Glukoseaufnahme (31). Zu einem Teil durch die gesteigerte Glukoseaufnahme, vor allem aber durch eine Aktivitätsveränderung der Schlüsselenzyme beeinflusst Insulin über verschiedene Wege die Glukoseverwertung in den Zellen. Im Skelettmuskel stimuliert Insulin neben der Glukoseaufnahme die Glykolyse, den nichtoxidativen Metabolismus zu Glykogen (Glykogensynthese) und hemmt die Glykogenolyse. Insulin senkt die endogene Glukoseproduktion (EGP) im Wesentlichen durch eine Hemmung der Glukoneogenese und eine Stimulation der Glykogensynthese in der Leber (21). Ebenso hat Insulin Einfluss auf die Synthese, den Abbau und die Speicherung von Fettsäuren (FS). In Leber- und Fettgewebe stimuliert Insulin die Lipogenese und die Fettsäurebiosynthese. Zudem hemmt Insulin über die Aktivitätssteigerung von Schlüsselenzymen der Fettsäurebiosynthese die Lipolyse in den Mitochondrien der Fettzellen und bewirkt durch die Aktivierung der Lipoproteinlipase am Endothel der Gefäße eine vermehrte Bereitstellung von FS für die Triglyzeridsynthese (31). Insulin stimuliert die Proteinbiosynthese direkt und indirekt, zum einen durch Induktion von Aminosäuretransportern und somit einer forcierten Aminosäureaufnahme in die Skelettmuskelzelle und zum anderen durch Aktivierung von Proteinkinasen wie mTOR (31, 32). Die langsamen Stoffwechselwirkungen des Insulins umfassen die Beeinflussung der Enzymsynthese durch Repression kataboler Enzyme (z.B. der Glukoneogenese) oder durch Induktion anaboler Enzyme der Glykolyse, Fettsäurebiosynthese und Lipogenese auf Transkriptionsebene (31).

Voraussetzung für die Wirkungsentfaltung des Insulins im Muskelgewebe ist die Interaktion mit seinem Plasmamembranrezeptor mit nachfolgender Signaltransduktion. Die Wirkungen des Insulins werden über den Insulinrezeptor vermittelt. Der tetramere Rezeptor gehört zur Familie der Tyrosinkinaserzeptoren und besteht jeweils aus zwei

extrazellulären α -Untereinheiten, fungierend als gemeinsame Bindungsstelle für ein Insulinmolekül, und aus zwei transmembranen β -Untereinheiten, die jeweils eine Tyrosinkinase darstellen. Insulin stimuliert die Aktivität der Tyrosinkinase des Insulinrezeptors an der β -Untereinheit, was zu Tyrosinphosphorylierungen verschiedener Proteine führt. Ein zentrales Protein ist das Insulinrezeptorsubstrat (IRS) (33). Das aktivierte IRS stimuliert andere Signalmoleküle wie die Phosphatidylinositol-3Kinase (PI3K). Diese bewirkt eine Modifikation der Zellmembran und eine Rekrutierung und Aktivierung der Proteinkinase B (PKB). Durch Phosphorylierung von weiteren Proteinen ist diese maßgeblich an der Translokation der Glukosetransporter Typ 4 (GLUT-4) aus den Vesikeln in die Zellmembran sowie über Aktivierung anderer Enzyme an der Aktivierung der anabolen Stoffwechselprozesse (Glykogensynthese, Antilipolyse, Proteinsynthese) beteiligt.

Bei insulinresistenten Patienten findet sich in den Muskelzellen eine deutlich verminderte insulinvermittelte Glukoseaufnahme (34, 35). Die durch das Insulin über seinen Rezeptor vermittelte Translokation der in intrazellulären Vesikeln gespeicherten GLUT-4 scheint also gestört zu sein. Bei Patienten mit T2DM konnten aber auch Störungen der Glykogensynthese (36) und eine eingeschränkte Aktivierung der Glykogensynthase (37) gezeigt werden (38). Erst nicht-invasive Studien mittels Magnetresonanztomographie (MRS) ermöglichten eine Untersuchung der metabolischen Wege in Echtzeit (39) und identifizierten so den reduzierten Glukosetransport und/oder die verminderte Glukosephosphorylierung als primäre Störung der insulinstimulierten Glukoseverwertung bei Patienten mit T2DM (21, 40).

Im Fettgewebe kommt es bei IR zu einer vermehrten Freisetzung von FFS in die Blutbahn, da die Hemmung der Lipolyse (FFS-Suppression) entfällt. Ebenso ist die insulinstimulierte Lipogenese erniedrigt. Reduzierte Glukosephosphorylierung und/oder reduzierter Glukosetransport scheinen ebenfalls bei der fettinduzierten IR ausschlaggebend zu sein (41, 42). Die genauen Mechanismen der fettinduzierten IR werden in Kapitel 1.5.1 besprochen.

Im Gegensatz zu Muskel- und Fettzellen erfolgt in den Leberzellen die Glukoseaufnahme überwiegend abhängig von der extrazellulären Glukosekonzentration über den wenig Glukose-affinen Glukosetransporter Typ 2 (GLUT-2). Hier findet keine insulinabhängige Vesikeltranslokation in die Zellmembran statt. Die IR im Lebergewebe ist vor allem gekennzeichnet durch eine verminderte EGP-Suppression. Außerdem lässt sich in der

Leber bei insulinresistenten Menschen mit T2DM im Rahmen eines hyperinsulinämisch-hyperglykämischen Clamp-Tests im Vergleich zu gesunden Probanden eine erniedrigte Akkumulation von Glykogen feststellen, was einem eingeschränkten Umsatz der Glykogensynthese geschuldet sein könnte (21, 43). Es wird vermutet, dass ein gestörter Fettmetabolismus mit der Entstehung einer hepatischen IR in Zusammenhang steht (21, 44). Die Insulinsensitivität von Muskulatur, Leber und Fettgewebe kann anhand von Glukoseaufnahme, Suppression von EGP und FFS unter Stimulation durch Insulin gemessen werden (21). Der Muskel nimmt postprandial, unter Insulin-stimulierten Bedingungen den größten Anteil der Glukose auf (45). Unter definierten Bedingungen des euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamp-Tests sind es ca. 80% (46). In der Folge werden daher primär die Messmethoden der Insulinsensitivität im Muskel besprochen.

1.4 Messmethoden der Insulinsensitivität im Muskel

Zur Messung der IR im Muskel wird die Insulinsensitivität bestimmt. Hierfür stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Eine Methode ist die Bestimmung von Indices auf Basis der Nüchternglukose und der Insulinwerte im Blut. Durch einen OGTT kann bereits eine Glukosetoleranzstörung bei noch normalem Nüchternglukosewert erkannt werden. Den Goldstandard zur Messung der Insulinsensitivität stellt der euglykämisch-hyperinsulinämische Clamp-Test (EHC-Test) dar.

1.4.1 Indices zur Beschreibung der Insulinresistenz

Die Bestimmung der Indices erfolgt auf Basis der gemessenen Nüchternplasmaglukose und der Insulinwerte. Gemessen wird die Nüchternplasmaglukose nach einer Fastenperiode von mindestens acht Stunden. Ein normaler Nüchtern-Plasmaglukosewert liegt bei ≤ 100 mg/dl. Nüchtern-Plasmaglukosewerte von 100-125 mg/dl sprechen für einen Prädiabetes und ein Wert ≥ 126 mg/dl deutet auf einen Diabetes Mellitus hin (47). Verschiedene Indices nutzen die Nüchtern-Plasmaglukosewerte zur vereinfachten Beschreibung der IR. Der HOMA(IR)-Index (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) ermöglicht als mathematisches Modell die Berechnung der IR und der β -Zellfunktion im Nüchternzustand. Er wird berechnet mittels Nüchtern-Glukosespiegel und Nüchtern-Insulinspiegel. $\text{HOMA(IR)-Index} = [(\text{Nüchtern-Insulinspiegel (mU/l)} \times \text{Nüchtern-Glukosespiegel (mmol/l)} / 22,5)]$ (48, 49). Je höher der HOMA(IR)-Index ist, desto wahrscheinlicher ist eine IR ($<2,0$: IR unwahrscheinlich, $> 2,5$: IR wahrscheinlich, $>5,0$:

IR ist vorhanden). Der QUICKI-Index (quantitative insulin sensitivity check index) ist ein weiterer, leicht zu messender und für die klinische Forschung geeigneter Index (50) und wird folgendermaßen berechnet: $QUICKI = [1 / (\log \text{ Nüchterninsulinspiegel} + \log \text{ Nüchtern-Glukosespiegel})]$. Je niedriger der QUICKI-Index ist, desto wahrscheinlicher ist eine IR. Beide Indices haben den Vorteil, dass sie mittels einer einmaligen Blutabnahme gemessen werden können. Sie sind für große epidemiologische Kohortenstudien mit wiederholten intraindividuellen Messungen, nicht jedoch für kleine Untersuchungsgruppen in Querschnittsstudien geeignet (21, 51).

1.4.2 Oraler Glukosetoleranztest

Der OGTT ist ein relativ leicht durchzuführender Test zur Bewertung der Glukoseverwertung und Insulinsensitivität. Er aktiviert den homöostatischen Prozess zwischen Insulin und Glukose (52) und ermöglicht bereits die Detektion einer Glukosetoleranzstörung. Er ist aufgrund von geringem Aufwand und Kosten für groß angelegte Interventionsstudien und epidemiologische Studien geeignet (21). Ein OGTT wurde im Rahmen der Dissertation im Screening der potentiellen Probanden durchgeführt (s. Kap. 3.4.1). Nach der Gabe einer definierten Menge Glukose werden die Blutglukosespiegel über einen Zeitraum von zwei Stunden gemessen. Der Blutglukosewert steigt innerhalb der ersten 60 Minuten an und sollte sich im Normalfall durch die Ausschüttung von Insulin nach zwei Stunden wieder normalisiert haben. Bewährt haben sich Messungen der Blutglukose und des Insulinspiegels zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 90, 120 min (53, 54). Die Befunde ermöglichen eine Unterscheidung zwischen Normalbefund ($< 140 \text{ mg/dl}$ nach 120 min) gestörter Glukosetoleranz ($140\text{-}199 \text{ mg/dl}$ nach 120 min) und Diabetes Mellitus ($>199 \text{ mg/dl}$). Zudem ermöglichen diverse Indices eine mathematische Berechnung der dynamischen Insulinsensitivität im Rahmen des OGTTs. Der Matsuda-Index berechnet sich durch folgende Formel: $10000 / (\sqrt{\text{Nüchtern-Glukosespiegel}} \times \text{Nüchtern-Insulinspiegel} \times \text{durchschnittlicher BZ während des OGTT})$. Als weiterer, im Rahmen des OGTT bestimmbarer Index ist der OGIS (oral glucose insulin sensitivity) Index zu nennen. Er ist im Rahmen von klinischen und großen epidemiologischen Studien geeignet und benötigt zur Berechnung drei Blutabnahmen während des OGTTs (nach 0, 90 und 120 Minuten) (55). Zusätzliche Methoden und Indices wurden von Matsuda und DeFronzo 1999 beschrieben (53) und getestet und von Paci und Mari 2003 (56) und Mari et al. 2005 (57) überprüft (52).

1.4.3 Euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp-Test

Goldstandard zur in vivo Messung der Insulinsensitivität ist der EHC-Test. Er ermöglicht die Bestimmung des Ganzkörperglukosebedarfes unter Insulin stimulierten Bedingungen (21). Durch die Infusion einer konstanten und gewichtsadaptierten Insulinrate und einer variablen Glukoserate (s. Kap. 3.7.4) wird ein hyperinsulinämisches Plateau der Plasmainsulinkonzentration mit Steady-State erreicht, bei dem die Glukoseaufnahme in Fettgewebe- und Skelettmuskel gleichgewichtig ist. Durch die hohe Insulinzufuhr wird die Glukoneogenese unterdrückt. Eine hohe Zugabe von Insulin bewirkt physiologisch eine erhöhte Aufnahme von Glukose in die Zellen sowie eine erhöhte Oxidation und eine Umwandlung und Speicherung der Glukose als Glykogen, was zu einem Abfall der Plasmaglukose führen würde (21). Dieser Abfall wird durch die Infusion einer variablen Glukosemenge vermieden. So kann die Plasmaglukose auf einem definierten euglykämischen Niveau (90 mg/dl) gehalten werden. Die variable Glukoseinfusionsrate wird entsprechend der regelmäßig gemessenen, zirkulierenden Plasmaglukosekonzentrationen angepasst (58, 59). Je mehr Glukose infundiert werden muss, um eine Konzentration von 90 mg/dl aufrecht zu erhalten, desto insulinsensitiver ist der Proband. Aus der Rate der in der letzten halben Stunde des EHC-Tests infundierten Glukoselösung sowie dem Körpergewicht kann der M-Wert als Maß für die Insulinsensitivität berechnet werden (s. Kap. 3.7.4).

Der EHC-Test ermöglicht die Messung von Plasmainsulinkonzentrationen unter verschiedenen metabolischen Bedingungen unabhängig von intakter Insulinsekretion im Pankreas (60) und hat aufgrund seiner Reproduzierbarkeit und Flexibilität einen hohen Wert in der Forschung. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass zur Durchführung geschultes und erfahrenes Personal vonnöten, und der EHC-Test mit einem erhöhten Zeit- und Arbeitsaufwand verbunden ist (21).

1.5 Fettinduzierte Insulinresistenz

Es ist bekannt, dass erhöhte Fettsäurespiegel mit vielen Zuständen assoziiert sind, einschließlich T2DM und Fettleibigkeit, bei denen IR eine Rolle spielt (61, 62). Gezeigt wurde eine Korrelation der Spiegel von FFS im Plasma mit dem Grad der IR, und dass eine experimentelle Erhöhung der FFS-Spiegel bei gesunden Probanden eine IR auslöst (63). Ursprünglich postulierten Randle et al. (41-43), dass der Einfluss von FFS auf die IR durch die initiale Hemmung der Pyruvathydrogenase vermittelt wird. Neuere Studien

erwiesen jedoch, dass die erhöhten Plasmaspiegel von FFS eine Reduzierung des durch Insulin stimulierten Glukosetransports und/oder der Glukosephosphorylierung bewirken, der eine Reduzierung der Glukoseoxidationsrate und der Glykogensynthese im Muskel nachfolgen (41, 42, 64). Es fanden sich zudem Einflüsse von Nahrungsfetten auf die Plasmaspiegel von Inkretinen. Diese könnten im Gegenzug die Insulinsensitivität beeinflussen (65). Die genauen Mechanismen sind Stand der aktuellen Forschung. Ein Zusammenhang zwischen reduzierter Fettspeicherkapazität des Fettgewebes und der Entwicklung einer IR liegt hier nahe (66). Um den Effekt erhöhter Fettsäurespiegel im Blut experimentell zu simulieren, gibt es die Möglichkeit der intravenösen Infusion von Fetten oder der enteralen Fettgabe beim Menschen oder in Tierversuchen.

1.5.1 Mechanismen der fettinduzierten Muskelinsulinresistenz

Es werden verschiedene Mechanismen diskutiert, die die Entstehung von fettinduzierter IR beeinflussen: Hierzu zählen angeborene Immunantworten mit der Aktivierung von proinflammatorischen Prozessen, die durch FS wie z.B. die von Bakterien abgeleitete Lipopolysaccharide (LPS) hervorgerufen werden, welche an den Toll-like Rezeptor-4 (TLR4) auf Macrophagen oder Adipozyten binden (67). TLR4 aktivieren proinflammatorische Kinasen wie JNK und IKK, welche die Insulinsignaltransduktion direkt über die hemmende Phosphorylierung von IRS an Serinresten (*vide infra*) beeinflussen. Ebenso führt die Aktivierung von TLR4 zu einer vermehrten Transkription von proinflammatorischen Genen. Hieraus resultieren erhöhte Spiegel von Zytokinen, Chemokinen, reaktiven Sauerstoffspezies und Eikosanoiden im Blut, was wiederum die Insulindesensibilisierung in den Zielzellen fördert (68). Zudem wurde bekannt, dass die Bindung von FS an den TLR4 eine Mehrproduktion von Ceramiden hervorruft, was zu einer Beeinträchtigung der insulinstimulierten PKB Aktivierung führt (69). Die verminderte Wirkung der PKB wiederum bewirkt in Muskel und Fettgewebe eine verminderte Rekrutierung von GLUT4 an die Zelloberfläche (70). Dieser Effekt konnte von mehreren Studien vor allem für gesättigten FS (saturated fatty acids: SAFA) beschrieben werden (71-73). Eine Rolle bei der Entstehung fettinduzierter IR scheint auch die intrazelluläre Akkumulation von Diacylglyceriden (DAG), Ceramiden, Acyl-Coenzym A (Acyl-Co-A) oder Acylcarnitinen zu spielen. DAG aktivieren neue Isoformen der Proteinkinase C (PKC: δ , ϵ , η , θ) und führen so zu einer Serin-Phosphorylierung des IRS-1 und zu einer Hemmung der insulinstimulierten IRS-1-Tyrosinphosphorylierung (69, 74).

Dies bewirkt eine verringerte Wirkung der Phosphatidylinositol3-Kinase (PI3K) und der PKB (75, 76) und somit eine IR. Zudem haben einige Studien postuliert, dass die Akkumulation von Acylcarnitinen durch inkomplette β -Oxidation die Entstehung einer IR begünstigen könnten (77, 78).

Auch eine Störung der Mitochondrienfunktion wird als mitbestimmender Faktor für die Entstehung fettinduzierter IR diskutiert (79). Studien an Menschen lassen einen direkten Effekt von Ernährungsfetten auf die Mitochondrienfunktion vermuten (80), während andere Studien dem widersprechen (81). Koves et al. beobachteten in ihrer Studie einen starken Zusammenhang zwischen IR und fettinduziertem mitochondrialem Stress (82). Sparks et al. zeigten in einer Kurzzeitstudie an zehn insulin sensitiven Männern und an Mäusen, dass eine Diät mit 50% Fettanteil über wenige Tage eine geringere Expression von bestimmten Genen der Mitochondrien bewirkt. Beobachtet wurde dieser Effekt für Gene, die für die oxidative Phosphorylierung und für die Biogenese der Mitochondrien kodieren, sowie für Gene des Zellkerns, die an der Kodierung der mitochondrialen Proteine beteiligt sind (z.B. Transportproteine) (80). Verschiedene Studien zeigten eine erniedrigte Fettoxidationsrate, unabhängig von dem Spiegel der FFS bei insulinresistenten Probanden (83, 84). Da der Großteil der Fettoxidation in den Mitochondrien stattfindet, liegt eine Störung innerhalb dieser nahe; sie beeinflusst die oxidative Kapazität der Mitochondrien und bewirkt eine Akkumulation der intramyozellulären Fettmetaboliten (85). Um Funktionseinschränkungen der Mitochondrien zu detektieren, wurde im Rahmen der Dissertation die maximale Respiration, bezogen auf die β -Oxidation und den Krebs-Zyklus, gemessen.

Kürzlich wiesen Szendrödi et al. nach, dass sowohl bei Erhöhung von FS im Blut als auch bei Fettleibigkeit und T2DM die durch DAG-Akkumulation aktivierte Isoform PKC θ , nicht aber Ceramide, Acyl-Carnitine oder gestörte mitochondriale Funktion für die Entwicklung der muskulären IR eine zentrale Rolle spielt (86).

1.5.2 Effekte der intravenösen Fettgabe

Die häufigste Methode zur Erforschung der Auswirkung von Fettgaben auf die Insulinsensitivität ist die intravenöse Fettgabe. Durch die Verwendung intravenöser Fettgaben konnte herausgefunden werden, dass FS eine IR induzieren. Eine intravenöse Fettinfusion [$>60\%$ ungesättigte FS (unsaturated fatty acids: UFA)] erhöht den Spiegel von FFS im Plasma und induziert dadurch die muskuläre IR bei gesunden Menschen (42, 64,

69). Meist werden die Fettinfusionen über einen kurzen Zeitraum von drei bis sechs Stunden verabreicht. Innerhalb dieses Zeitraumes ist es möglich, Einflüsse auf die insulinstimulierte Glukoseaufnahme zu erkennen. Eine relevante Erhöhung des Insulinspiegels lässt sich nach 30 Minuten und eine Erhöhung der FS nach ein bis anderthalb Stunden feststellen. Eine intrazelluläre Akkumulation von Fettmetaboliten zeigt sich nach ca. zweieinhalb Stunden (42, 86-88). Häufig verwendete Fettemulsionen sind zum Beispiel Liposyn II (Hospira Inc, Lake Forest, III), das aus 66% n-6 mehrfach ungesättigten FS (polyunsaturated fatty acids: PUFA), 18% UFA und 12% SAFA besteht, oder das Intralipid 20% (Baxter/Fresenius Kabi, Deerfield, III), das aus 53% n-6 PUFA, 24% UFA und 16% SAFA (87, 89, 90) besteht. Diese Emulsionen verursachen verlässlich eine IR (18, 91). Ergänzend zu den Fettinfusionen kann eine Heparininfusion verwendet werden. Das Heparin bewirkt eine Stimulierung der Lipoproteinlipase und so eine Beschleunigung der Triglyceridhydrolyse (42).

1.5.3 Effekte der oralen Fettgabe

Im Gegensatz zur intravenösen Fettinfusion, stimulieren oral aufgenommene FFS die intestinale Sekretion von Inkretinen wie Glucagon-like-peptide-1 (GLP-1) sowie Glukose abhängigen insulinotropen Polypeptid (GIP) und könnten so indirekt die Glukose stimulierte Insulinsekretion erhöhen (92). Die meisten Studien zur IR im Zusammenhang mit oraler Fettaufnahme wurden an Ratten durchgeführt und konnten zeigen, dass eine über einen längeren Zeitraum verlaufende Ernährung mit hohem Fettgehalt ebenfalls IR verursacht (93). Es gibt wenige Daten dazu, wie sich die einmalige Gabe einer hochkalorischen Fettmahlzeit auf die Insulinsensitivität im Menschen auswirkt. Vorausgegangene Studien zeigten nach oraler Fettgabe wenig oder keine Reduktion der Insulinsensitivität (94-96). Im Gegensatz dazu zeigten Nowotny et al., dass beim gesunden Menschen die einmalige orale Aufnahme von 100 ml Sojabohnenöl [61% PUFA, 23% einfach ungesättigte FS (monounsaturated fatty acids: MUFA), und 16% SAFA] eine IR induziert (69). Die Studienlage ist heterogen und unterscheidet sich in Studienprotokoll (einmalige Fettgabe vs. Fettaufnahme über einige Stunden vs. einige Wochen) oder der Zusammensetzung der Interventionen (reines Fett vs. gemischte Mahlzeiten mit Anteilen von Proteinen und/oder Kohlenhydraten). Eine Zusammenfassung der entsprechenden Studien in Bezug auf das Probandenkollektiv, die entsprechende Intervention und den gemessenen Effekt auf die Insulinsensitivität ist in Tabelle 1 (*vide infra*) dargestellt.

Tabelle 1: Interventionsstudien mit oraler Fettaufnahme beim Menschen: fettinduzierte Insulinresistenz

Referenz	Probandenkollektiv	Intervention	Insulinsensitivität [TEST]	Intramyozelluläre Lipide	Zirkulierende Lipide und Hormone
Hernandez et al. 2017 (97)	gesunde Männer u. gesunde Mäuse	einmalige orale Aufnahme von PÖ (SAFA) vs. Wasser	[EHC] ↓ GK-IS (PÖ) ↓EGP-Suppression (PÖ>Wasser) ↓FFS-Suppression (PÖ>Wasser)		↑TG (PÖ,59%) ↑Chylomikronen(PÖ,156%) ↔ FFS ↑ GLP-1 (PÖ), ↑ GIP (PÖ)
Nowotny et al. 2013 (69)	gesunde Männer u. Frauen	p.o. Sojola ^{a)} (UFA) vs. i.v. Intralipid 20% ^{b)} (UFA) vs. LPS vs. Glycerol	[EHC] ↓ (p.o.,67%) ↓(i.v.,60%) ↓(LPS, 8%)	↔ DAG (total)	
Brons et al. 2009 (94)	gesunde Männer	5d HFHK-Diät (50% Extrakalorien davon 60% Fett) vs. Kontrolle (35% Fett); je 1/3 SAFA/MUFA/ PUFA	↔ [EHC]	↑ GLP-1 ↔ GIP (HFHK-Diät)	↓TG (HFHK-Diät) ↓LDL(HFHK-Diät) ↑ HDL (HFHK-Diät)
Lopez et al. 2008 (98)	gesunde Männer	Mischmahlzeiten mit 72% Fett 1) Olivenöl vs. 2) SÖ vs. 3) Butter vs. 4) Fischöle vs. 5) Kontrolle	[OGIS-Index] ↓↓ ↓↓↓ ↓↓↓↓ ↓		↑TG (1-4) ↔ TG (5)
Kien et al. 2013 (99)	gesunde Männer u. Frauen	3 Wo Diät 1) PS-Diät ^{c)} (SAFA) 2) ÖS-Diät ^{d)} (UFA) 3) Kontroll-Diät (7d)	[i.v. OGTT] ↑ (ÖS)	↔DAG (Frauen) ↔Ceramide (Frauen) ↑Ceramide(PS, Männer)	↑TG (ÖS,Frauen) ↔TG (Männer)
Lopez et al. 2011 (96)	Männer mit Hyperlipidämie (Typ2b,4), normale Glukosetoleranz	gemischte Mahlzeiten (72% Fett) 1) mit 81% MUFA vs. 2) mit 65% SAFA vs. 3) Kontrolle ohne Fett	[OGIS-Index] ↓ (1 u.2) ↔ (3)		↑ TG (2>1) ↔ TG (3)
Clore et al. 2004 (100)	fettleibige Personen ohne Diabetes Mellitus	2h enterale Infusion von 1) PÖ (SAFA)vs. 2) SÖ (PUFA)	[Somatostatin-Insulin-Clamp] ↓(SAFA>PUFA)		↑FFS (1u.2) ↑EGP(PÖ>SÖ) Glykogenolyse: ↓(SÖ) ↔(PÖ)
Xiao et al. 2006 (101)	übergewichtige o. fettleibige Personen	orale Gabe Fettemulsion 1) reich an SAFA vs. 2) reich an PUFA vs. 3) reich an MUFA	[HC] ↓(SAFA)		↑GSIS (PUFA)
Tierney et al. 2011 (102)	insulinresistente, adipöse Personen	Diät,12Wo 1) SAFA-Diät ^{e)} vs. 2) MUFA-Diät ^{f)} vs. 3) Isoenergetische-Diät ^{g)} vs. 4) Isoenergetische Diät (ω-3-PUFA) ^{h)}	[iv. OGTT] ↔		↓TG (Iso-ω-3PUFA) ↔LDL (alle)
Summers et al. 2002 (103)	normalgewichtige, fettleibige u. Personen mit T2DM	5 Wo Diät 1) SAFA-Diät ⁱ⁾ vs. 2) PUFA-Diät ^{j)}	[EHC] ↑(PUFA> SAFA)		

PÖ: Palmöl, SÖ: Sonnenblumenöl, EHC: euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp, SAFA: saturated fatty acids, PUFA: polyunsaturated fatty acids, MUFA: monounsaturated fatty acids, UFA: unsaturated fatty acids, EGP: endogene Glukoseproduktion, FFS: freie Fettsäuren, GLP-1: Glukagon-like Peptid, GIP: Gastric inhibitory Polypeptid, LPS: Lipopolysaccharide (Endotoxin), PKC: Proteinkinase C, p.o.: per os, i.v.: intravenös, DAG: Diacylglyceride, ACC: Acylcarnitine, CER: Ceramide, HFHK-Diät: hochfettreiche und hochkalorische Diät, IS: Insulinsensitivität, GSIS: Glukose stimulierte Insulinsekretion GK- IS: Ganzkörper-Insulinsensitivität, OGIS: Oraler Glukose-Insulinsensitivitäts-Index, T2DM: Diabetes Mellitus Typ 2, HC: Hyperglycämischer Clamp

a) 61% PUFA, 23% MUFA, 16% SAFA, b) 20% Sojabohnenöl, c) PS-Diät: 40,4% Fett davon 16% Palmsäure, 16,2% Ölsäure, d) ÖS-Diät: 40% Fett davon 28,2%Ölsäure, 2,4% Palmsäure, e) SAFA-Diät: 16% SAFA, 12% MUFA.6% PUFA, f) MUFA-Diät: 8% SAFA, 20% MUFA, 6% PUFA, g) isoenergetische- Diät: 8% SAFA, 11%MUFA, 6% PUFA, h) isoenergetische. Diät mit ω-3-PUFA: 8% SAFA, 11% MUFA, 6% ω-3-PUFA, i) SAFA-Diät: 42% Fett, 21% SAFA, j) PUFA-Diät: 34% Fett, 9% PUFA

1.5.4 Rolle der Fettsäurezusammensetzung (gesättigt/ ungesättigt)

Die Zusammensetzung der FS könnte eine wichtige Rolle bei der Entstehung der fettinduzierten IR einzunehmen (104). Die meisten, teilweise kontroversen Daten über die unterschiedlichen Einflüsse von PUFA und SAFA auf die IR stammen aus tierexperimentellen Untersuchungen. Sowohl Frangioudakis et al. als auch Lee et al. verglichen in ihren Studien den Einfluss von SAFA und PUFA (ω -6) bei Ratten, die mit der jeweiligen Fett-Diät (> 50% Fettgehalt) ernährt wurden. Frangioudakis et al. beobachteten eine gehemmte Insulinsignalkaskade (IRS-1- und PKB-Phosphorylierung erniedrigt) sowohl nach der Ernährung mit PUFA als auch mit SAFA (105). Wohingegen Lee et al. eine IR nur nach der Gabe von SAFA beschreiben konnten. Nach der Fett-Diät, reich an UFA, zeigte sich hier sogar eine leicht verbesserte Insulinsensitivität (106). Storlien et al. und Marotta et al. fügten, in ihren Studien an Ratten dem Vergleich von Diäten mit SAFA und PUFA noch eine Diät mit MUFA (ω -9) hinzu. Alle FS erzeugten eine IR (104, 107). Bei Marotta et al. zeigte sich vor allem nach der Gabe von PUFA eine intrazelluläre Akkumulation von Triglyzeriden (107).

Die Daten zur oralen Fettgabe und zu den Unterschieden von SAFA und PUFA beim Menschen sind rar. Xiao et. al. beschrieben in ihrer Studie an adipösen übergewichtigen glukosetoleranten Menschen, dass die Einnahme von SAFA eine stärkere periphere IR induziert als die von PUFA. UFA hingegen induzierten eine stärkere Reduktion der glukose-stimulierten Insulinsekretion (101). Beysen et al. fanden in ihrer Studie mit wiederholten oralen Fettgaben (MUFA vs. PUFA vs. SAFA) bei gesunden Probanden über einen kurzen Zeitraum eine Erhöhung der Glukose stimulierten Insulinsekretion mit dem größten Effekt für MUFA und den niedrigsten Effekt für SAFA. Zudem fand sich eine größere GLP-1 Erhöhung nach MUFA als nach der Gabe von SAFA (65).

2. Forschungsziele und Hypothesen

Ziel war es, die akuten Effekte einer oral aufgenommenen Fettemulsion (reich an SAFA oder PUFA) auf die Insulinsensitivität der Muskulatur, des Leber- und Fettgewebes gesunder Menschen zu bestimmen.

Primärhypothese:

Die orale Aufnahme einer an SAFA reichen Fettemulsion reduziert die insulinstimulierte Glukoseaufnahme im Skelettmuskel stärker als die orale Aufnahme einer an PUFA reichen Fettemulsion.

Sekundärhypothese:

Auch die Insulinsensitivität von Fett- und Lebergewebe, gemessen als FFS-Suppression und EGP-Suppression, ist nach SAFA-reicher Fettaufnahme im Vergleich zu PUFA reduziert.

Tertiärhypothese:

Die Mitochondrienfunktion, gemessen als maximale respiratorische Kapazität des Muskels, ist nach oraler Aufnahme von SAFA und PUFA vergleichbar vermindert.

3. Material und Methoden

3.1 Studiendesign und Ablauf

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine dreiarmlige, randomisierte Cross-Over-Interventionsstudie. Zwischen den einzelnen Studienarmen lagen Intervalle von mindestens zwei bis vier Wochen. Die Gesamtdauer der Studie belief sich auf zwölf Monate, in denen zehn männliche, gesunde und durchschnittlich trainierte Probanden untersucht wurden. Die Probanden erhielten randomisiert an drei Versuchstagen eine Fett/Wasser-Emulsion mit überwiegendem Anteil an SAFA, eine Fett/Wasser-Emulsion mit hohem Anteil an PUFA und die Kontrollintervention mit Mineralwasser. Alle Probanden wurden sowohl mündlich als auch schriftlich über die Studie und deren Ablauf informiert und aufgeklärt (Studienregistrierungsnummer: NCT01736202). Die schriftlichen Einverständniserklärungen aller Probanden sowie ein bewilligter Ethikantrag lagen vor (Ethikbewilligungsnummer: 3107).

3.2 Beschreibung der Studienkohorte

Eingeschlossen in die Studie wurden Probanden mit einem Body Mass Index [BMI (kg/m^2)] von 20-25 kg/m^2 und einem Alter zwischen 20 und 40 Jahren. Die Probanden waren Nichtraucher, klinisch gesund und ohne positive Familienanamnese für T2DM bei Verwandten ersten Grades. Es bestand nach Angaben der Probanden keine Stoffwechselerkrankung. Ebenso wenig nahmen die Probanden regelmäßig Medikamente bzw. Ernährungsergänzungsmittel ein. Bedingung für den Einschluss in die Studie war eine durchschnittliche körperliche Aktivität (weniger als 150 Minuten Training pro Woche). Durch das Screening wurden sowohl Gerinnungsstörungen, Dyslipidämien und Anämien zum aktuellen Zeitpunkt als auch durch einen OGTT ein bestehender T2DM ausgeschlossen.

3.3 Probandenrekrutierung

Die Rekrutierung der Probanden erfolgte durch Aushänge in den öffentlich zugänglichen Räumlichkeiten der Heinrich-Heine-Universität und des Universitätsklinikums Düsseldorf sowie durch Information auf der Internetseite des DDZ (Deutsches Diabetes Zentrum). Allen Interessenten wurde im Vorhinein ein Fragebogen (s. Anhang 1.) zugesandt, um ihre Eignung für die Studie zu überprüfen.

Die nach Auswertung des Fragebogens potentiell geeigneten Probanden wurden zu einem Screening eingeladen.

3.4 Screening

Die gesundheitliche Eignungsprüfung zur Studienteilnahme erfolgte in Form eines vierstündigen Screenings. Zu Beginn wurden die einzelnen Probanden erneut über den Ablauf des Screenings und der Studie mit ihren Interventionen informiert und ihr Einverständnis zur Teilnahme wurde schriftlich eingeholt. Es erfolgte eine venöse Blutabnahme und eine Überprüfung der Glukosetoleranz der Probanden mittels eines OGTTs, um eine Glukoseintoleranz und einen T2DM auszuschließen. Ebenfalls wurden Gewicht, Größe, Taillen- und Hüftumfang gemessen. So konnten BMI sowie das Taille-Hüft-Verhältnis bestimmt werden. Während des Screenings wurde der systolische und diastolische Blutdruck dreimal gemessen und ein Ruhe-Elektrokardiogramm (EKG) durchgeführt. So konnten bei den Probanden kardiale Vorbelastungen zum aktuellen Zeitpunkt ausgeschlossen werden. Mittels einer Bioimpedanzmessung (BIA) wurden die Körperzusammensetzung sowie der Ernährungs- und Trainingszustand bestimmt.

3.4.1 Oraler Glukosetoleranztest

Der OGTT ermöglicht eine Aussage über die Glukoseverwertung. Zur Durchführung des OGTT erhielt jeder Proband einen Venenzugang in die rechte oder linke Cubitalvene, um die regelmäßige Messung der Blutglukose zu gewährleisten. Dabei wurde ein Venenverweilkatheter mit Injektionsport (Vasofix® Safety, 20G, B/Braun, Melsungen, Deutschland) verwendet und mit einer Kanülenfixierung (APPLICA i.v. 100, 8 cm x 6 cm, Smith & Nephew, Hamburg, Deutschland) gesichert. Um die Blutabnahme zu erleichtern, war der Venenverweilkatheter zusätzlich mit einem Dreiwegehahn (3-way-stopcock, PSU, blue, FRESSENIUS KABI AG, Bad Homburg, Deutschland) verbunden. Die Probanden waren seit mindestens zehn Stunden nüchtern und hatten sich drei Tage lang kohlenhydratreich ernährt (mindestens 150 g Kohlenhydrate pro Tag). Zum Zeitpunkt null erfolgte die Messung der venösen Nüchternblutglukose mittels eines enzymatisch-amperometrisch, auf Glukoseoxidase basierenden Messsystems (BIOSEN C-Line, EKF Diagnostic Barleben/Magdeburg, Deutschland). Nach dieser Messung nahmen die Probanden innerhalb von fünf Minuten 300 ml Glucose Sirup (ACCU-CHECK® Dextrose O.G-T, Roche Diagnostics,

Mannheim, Deutschland, entspricht 75 mg wasserfreier Glucose) oral auf. Zu den Zeitpunkten 10, 20, 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten nach Glukoseaufnahme erfolgten weitere Messungen der Blutglukose (108). Ebenfalls fand zu diesen Zeitpunkten eine Blutabnahme zur Bestimmung des Insulinspiegels sowie des C-Peptids statt. Voraussetzung für die Teilnahme an der vorliegenden Studie war ein OGTT, dessen Nüchternblutglukose-Wert und 2-Stunden-Wert auf eine ungestörte Glukosetoleranz schließen ließen (Nüchternglukose < 100 mg/dl, 2-Stunden-Wert von <140 mg/dl) (109).

3.4.2 Blutabnahme

Zu Beginn des Screenings erfolgte eine einmalige Nüchternblutabnahme und eine Urinprobe, um die gesundheitliche Eignung der Probanden zur Studienteilnahme festzustellen (s. Tabelle 2). Zudem wurde im Rahmen des OGTTs zu dessen jeweiligen Messzeitpunkten das Insulin und C-Peptids bestimmt.

Tabelle 2: Screeningparameter aus venösen Blutentnahmen

Laboruntersuchung	Gemessene Blutparameter
Klinische Chemie (Serum)	<ul style="list-style-type: none"> • Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid, Magnesium, • Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure • GOT/AST, GPT/ALT, GGT, alk. Phosphatase, Bilirubin gesamt, Cholinesterase, Lipase • Triglyzeride, Cholesterin, HDL, LDL • LDH, Creatin-Kinase, Eiweiß gesamt, hsCRP • TSH, fT4
Klinische Chemie (Urin)	<ul style="list-style-type: none"> • Mikroalbumin • Natrium • Kalium
Blutbild (EDTA)	<ul style="list-style-type: none"> • Leukozyten, Erythrozyten, Hämatokrit, MCH, MCV, MCHC
Blutglukose (EDTA)	<ul style="list-style-type: none"> • HbA1c nach NGSP
Gerinnung (Citrat)	<ul style="list-style-type: none"> • Quick • INR
Im Rahmen des OGTT nach 0,10,20,30,60,90,120,150,180 Minuten	<ul style="list-style-type: none"> • Insulin • C-Peptid • Glukose

3.4.3 Elektrokardiogramm

Gegenstand der Screeninguntersuchung war auch die Ableitung eines EKGs um pathologische Auffälligkeiten der Herzerregungsleitung zum aktuellen Zeitpunkt erkennen oder ausschließen zu können. Hierfür wurde ein 12-Kanal-Gerät (MAC 1600, GE Healthcare, Solingen, Deutschland) mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 50mm/s verwendet.

3.4.4 Bioimpedanzmessung

Durch eine BIA im Rahmen des Screenings bestand die Möglichkeit, den Trainingszustand der Probanden und deren Körpergewebeanteil an Wasser und Fett zu evaluieren. Bei der BIA werden die Widerstände im menschlichen Körper gemessen. Hierfür wird über die Elektroden ein nicht spürbares Wechselstromfeld erzeugt. Dabei setzen Wasser, Fett- und Muskelgewebe dem Strom unterschiedliche Widerstände entgegen. Die BIA ermöglicht zum einen eine Aussage über den Körperwasseranteil und zum anderen über den Fettanteil und die Magermasse des Probanden, wobei die Werte in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Größe und Gewicht erhoben werden (110). Hierfür wurden beim liegenden Probanden jeweils zwei Gel-Elektroden (BIANOSTIC AT® Data Input, Darmstadt, Deutschland) an der rechten Hand (1. auf einer gedachten Linie durch den *Processus styloideus ulnae*, 2. auf einer gedachten Linie durch die Mitte der Grundgelenke von Zeige- und Mittelfinger) und an dem rechten Fuß (1. auf der Linie zwischen Außen- und Innenknöchel, 2. auf der Linie durch die Mitte der Grundgelenke zwischen dem zweiten und dritten Zeh) des Probanden befestigt und mit dem Messgerät (Bodyimpedanzanalyser, Data Input GmbH, Darmstadt, Deutschland) verbunden.

3.5 Ablauf eines Studientages

Die durch das Screening ausgewählten Probanden waren drei Tage vor Beginn des jeweiligen Studientages keiner intensiven sportlichen Aktivität nachgegangen und hatten sich kohlenhydratreich ernährt (mindestens 150 g Kohlenhydrate pro Tag). Am Vorabend des Studientages hatten sie eine fettarme Mahlzeit zu sich genommen und dann zwölf Stunden gefastet. Beginn des Studientages war jeweils morgens um 6.30 Uhr.

Anfangs wurden zwei Venenverweilkanülen am rechten und linken Arm in eine

Cubitalvene gelegt und mit einer Kanülenfixierung gesichert. Um die Blutabnahme zu erleichtern, war der Venenverweilkatheter am linken Arm zusätzlich mit einem Dreiwegehahn verbunden. Dies ermöglichte u.a. die Infusion von markierter Glukose (6,6-²H₂ Glukose) über den gesamten Versuchstag zur Bestimmung der endogenen Glukoseproduktion. Die (6,6-²H₂)Glukose-Infusionslösung bestand aus 1000 ml NaCl 0,9% (Isotonische Kochsalzlösung, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland) und 4 g deuterierter-Glukose ((6,6-²H₂)Glukoselösung 20%, Deuterierungsgrad $\geq 98\%$, Profil GmbH, Neuss, Deutschland). Nach der ersten basalen Nüchternblutabnahme wurde zunächst für zehn Minuten ein Bolus der Glukoselösung mit einer festgelegten Infusionsrate (ml/h) = $0,06 \times \text{KG (kg)} \times \text{Nü-BG (mg/dl)}$ infundiert. Danach erfolgte eine kontinuierliche D₂-Glukoseinfusion mit einer Rate (ml/h) von $0,54 \times \text{KG (kg)}$ bis zum Ende des EHC-Tests. Der Plasmaspiegel der Glukoseisotope wurde einmal zu Beginn des Versuchstages und jeweils dreimal während der indirekten Kalorimetrie bestimmt. Zwei Stunden nach Beginn des Versuchstages erhielten die Probanden zur oralen Aufnahme eine der drei Interventionen (s. Abbildung 1). Eine Stunde vor der Intervention erfolgte eine Muskelbiopsie nach lokaler Betäubung im *Musculus vastus lateralis*. Zweieinhalb Stunden nach der Intervention wurde eine zweite Muskelbiopsie im kontralateralen *Musculus vastus lateralis* durchgeführt. *Ex vivo* wurde die maximale mitochondriale respiratorische Kapazität des Skelettmuskels mittels Hochauflösungsrespirometrie bestimmt. Sechs Stunden nach der Intervention wurde ein zweistündiger EHC-Test durchgeführt, um die Ganzkörperinsulinsensitivität zu bestimmen. Der Ruheenergieumsatz (kcal/d) und der respiratorische Quotient (RQ) konnten mittels einer dreimalig durchgeführten indirekten Kalorimetrie ermittelt werden. Die erste Kalorimetrie erfolgte basal (vor der Intervention), die zweite sechs Stunden nach Intervention und die dritte zur Messung der metabolischen Flexibilität in der Phase mit konstanter Glukoseinfusionsrate des EHC-Tests. Blutdruck und Herzfrequenz wurden im Verlauf des Versuchstages mindestens dreimal gemessen. Zur Bestimmung der unter Kap.: 3.7.1 aufgeführten Blutparameter wurden stündlich Blutabnahmen über den Zugang am linken Arm durchgeführt (s. Blutentnahmeschema Anhang 2).

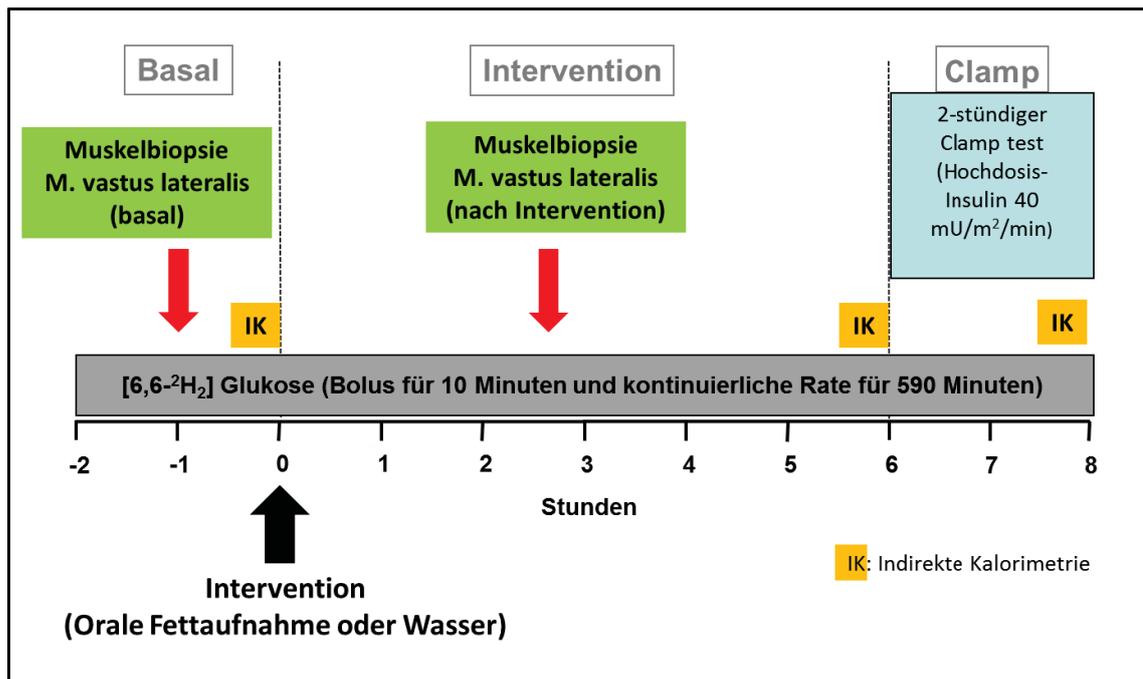


Abbildung 1: Schematischer Ablauf eines Studientages.

3.6 Interventionen

Die vorliegende Studie beinhaltete drei unterschiedliche Interventionen. Zwei Stunden nach Versuchsbeginn erhielten die Probanden entweder eine Fett/Wasser-Emulsion mit hohem Anteil an SAFA, eine Fett/ Wasser-Emulsion mit hohem Anteil an PUFA oder die Kontrollintervention (KON) mit Mineralwasser zur oralen Aufnahme (s. Tabelle 3).

Tabelle 3: Zusammensetzung der Interventionsemulsionen.

Intervention	Zusammensetzung
SAFA	<ul style="list-style-type: none"> • 92 g Palmöl (Bio-palm, Landkrone, St. Ingbert, Deutschland) • 9,2 g zuckerfreier Vanillesirup (Torani, San Francisco, USA) • 1,8 g Emulgator (Glice, Texturas Albert y Ferran Adria, Barcelona, Spanien) • 81 g stilles Mineralwasser,
PUFA	<ul style="list-style-type: none"> • 92 g natives Distelöl (Mazola, Unilever Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland) • 9,2 g zuckerfreier Vanillesirup (s.o.) • 1,8 g Emulgator (s.o.) • 81 g stilles Mineralwasser
KON	<ul style="list-style-type: none"> • 173 g stilles Mineralwasser, • 9,2 g Vanillesirup (s.o.) • 1,8 g Emulgator (s.o.)

Für die Zubereitung der Interventionen wurde zunächst das jeweilige Öl im Wasserbad einige Minuten erhitzt, bis das Palmöl sich verflüssigte bzw. das Distelöl sich erwärmte. Unter Rühren wurde der Emulgator (s. Tabelle 3) langsam hinzugegeben. Durch die Verwendung eines Milchaufschäumers vermengte und homogenisierte sich das in kleinen Portionen hinzugegebene stille Mineralwasser mit dem Fett. Danach erfolgte die Hinzugabe des Vanillesirups, der ebenfalls mit dem Milchaufschäumer in die Emulsion eingebracht wurde. Die Mischung wurde zwei Minuten weiter gerührt, um eine Zieltemperatur von 60-70 °C zu erreichen. Die Zubereitung der Kontrollintervention erfolgte auf dieselbe Weise, wobei der Fettanteil durch die identische Menge an Wasser ersetzt wurde. Die Emulsion wurde in eine Thermoskanne abgefüllt um die Zieltemperatur zu erhalten. Die Probanden hatten 15 Minuten Zeit um die Interventionsemulsion zu trinken. Die zusätzliche Einnahme von kleinen Schlucken Wasser war erlaubt.

3.7 Untersuchungsmethoden

3.7.1 Blutentnahmen

Während des Versuchstages wurden regelmäßige Blutabnahmen über den linken Venenzugang durchgeführt (s. Blutentnahmeschema Anhang 2). Nachdem das Blut über den Venenzugang zunächst mittels 2-5 ml Spritzen (Injekt®, B/BRAUN, Melsungen, Deutschland) entnommen worden war, wurde es auf die Blutröhrchen verteilt. Nach der Zentrifugierung (Allegra™, X-12R Zentrifuge, Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland) konnte das Serum/Plasma entnommen werden und stand für die unterschiedlichen Messverfahren zur Verfügung. Für die Bestimmung der Fettparameter wie FFS wurde Blut in Na-EDTA/ Orlistat Röhrchen (Cryovials, Biozym Scientific GmbH, Wien, Österreich) gefüllt und enzymatisch in einem klinisch chemischen Analysator (TG im Roche/Cobas c 311, Roche Diagnostics, Mannheim Deutschland; FFS im Cobas c 311, WAKO, Neuss, Deutschland; Glycerol im R-BIOPHARM, Roche, Darmstadt, Deutschland) bestimmt. Durch folgende Formel konnte im Nachhinein die Suppression der FFS berechnet werden: $(\text{FFS vor dem EHC} - \text{FFS im steady state}) / \text{FFS vor dem EHC} \times 100$. Die Messung des Spektrums der FFS, wofür zuvor ebenfalls Blut in einem Na- EDTA/Orlistat Röhrchen (Cellstar® Tubes, Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland) überführt worden war, erfolgte mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie (111) Blut zur Bestimmung der

Chylomikronen wurde in ein Serumröhrchen (BD Vacutainer®, Plymouth, UK) gefüllt. Später erfolgte die Messung der Chylomikronen mittels Fraktionierung durch Dichtegradientenultrazentrifugation. Zur Bestimmung der pankreatischen Parameter (Insulin und C-Peptid) sowie des Cortisols zur eventuellen Feststellung eines Stressgeschehens nach Fettaufnahme wurde Blut in EDTA Röhrchen (Cryovials, Biozym Scientific GmbH, Wien, Österreich) überführt. Aus dem EDTA Plasma konnten Insulin und C-Peptid mittels Radioimmunassay (Millipore, St. Charles, Missouri, USA) und Cortisol mittels Festphasen/Zweiphasen immunometrischem Chemilumineszenzassay (Immulate® 2000 XPi, Siemens, Eschborn, Deutschland) bestimmt werden. Das Glukagon konnte nach Zentrifugation in einem Glukagon Heparin/Aprotinin Röhrchen (Cryovials s.o.) ebenfalls durch ein Radioimmunassay gemessen werden. Durch die Bestimmung der Glukoseisotope nach Einbringen des Blutes in ein F-EDTA Röhrchen (Mikro-Probengefäß, Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf, Deutschland) wurde die EGP festgestellt. Hierzu erfolgte im Labor eine Entproteinisierung von Plasma. Die endogene Glukose und exogen infundierte (6-6-²H₂)Glukose wurden zu Pentaacetat derivatisiert. Mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie konnten die beiden Massen quantifiziert und als Atom Percent Enrichment zueinander ins Verhältnis gesetzt werden. Daraus wurde, unter Einrechnung der infundierten Menge an D₂-Glucose, die EGP bestimmt. Zur Messung der Inkretine (GIP und GLP-1) wurde ein K₂-EDTA Röhrchen mit DPP-IV Hemmer (BD, Franklin Lakes, USA) mit Blut befüllt. GIP und GLP-1 wurden aus EDTA-Plasma mittels Enzym Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) (Millipore, St. Charles, Missouri, USA) bestimmt. Zusätzlich erfolgten regelmäßige Kontrollen der Blutglukose. Hierfür wurde das Blut in 20 µl end-to-end Kunststoffkapillaren eingegeben, die in 1 ml Reaktionsgefäße mit Glukose/Laktat/Hämolyselösung (EKF Diagnostic GmbH, Barleben/ Magdeburg, Deutschland) eingebracht und geschüttelt wurden. Auf diese Weise konnte die Blutglukose (BG) mittels eines enzymatisch-amperometrisch, auf Glukoseoxidase basierenden Messsystems (s.o.) festgestellt werden (69). Nach jeder Blutabnahme erfolgte eine Spülung des Venenzugangs mit NaCl-Lösung 0,9% (FRESENIUS KABI AG, Bad Homburg, Deutschland). Genaue Zeitangaben der einzelnen Blutabnahmen können dem Blutabnahmeschema im Anhang entnommen werden (Anhang 2).

3.7.2 Muskelbiopsien

Die zwei Muskelbiopsien erfolgten nach lokaler Betäubung mit Lidocainhydrochlorid 1H₂O (Xylocitin® -cor 2% 5 ml, mibe GmbH, Brehna, Deutschland) im *musculus vastus lateralis* (s. Abbildung 2A). Die erste Biopsie fand eine Stunde vor der Intervention basal, die zweite zweieinhalb Stunden nach der Intervention im kontralateralen Muskel statt. Ein möglichst hohes Maß an Entspannung im Bereich des Muskels wurde durch die Lagerung des Beines auf eine Knierolle erreicht. Die zuvor von Haaren befreite Stelle am Oberschenkel wurde desinfiziert (Octenisept® farblos, Schülke u. Mayr GmbH, Norderstedt, Deutschland), mit einem Lochtuch (Foliodrape®, Paul Hartmann GmbH, Heidenheim, Deutschland) abgedeckt und erneut desinfiziert. Auf einem sterilen Tischabdecktuch (Foliodrape®, Abdecktuch Comfort, Paul Hartmann GmbH, Heidenheim, Deutschland) waren die für die Biopsie benötigten Materialien bereitgelegt. Nach der Betäubung erfolgte eine 0,5 cm lange Hautinzision mit einem Skalpell (Klinghalter und Einmal-Klinge/ Surgial Blades®, Swann Morton, Sheffield, England). Hiernach wurde die Muskelfaszie eröffnet und eine mit einer Perfusorspritze (Orginal-Perfusor®-Spritze 50 ml Luer-Lock, B/BRAUN, Melsungen, Deutschland) und einer Verbindungsleitung (B/BRAUN, Melsungen, Deutschland) konnektierte Bergström Nadel eingeführt. Mittels des durch dieses System erzeugten Unterdrucks konnten die Muskelproben entnommen werden (s. Abbildung 2A+B). *Ex vivo* erfolgte die Messung der maximalen respiratorischen Kapazität des Muskels ($\text{pmol}\cdot\text{sec}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$) durch die Hochauflösungsrespirometrie mittels eines Oxygraphen (high resolution respirometry Oxygraph-K2, Oroboros Instruments, Innsbruck, Österreich) (s. Abbildung 2). Hierfür wurde das entnommene Muskelgewebe zunächst von sichtbarem Blut und Fett befreit, längs in kleine Einzelteile zerlegt und dann eine Menge von 150 ml auf eine Petrischale in 4 ml eines Erhaltungspuffers zur Imitierung eines *in vivo* Milieus (10 mM CA-EGTA-Puffer, 0,1 μM freies Calcium, 20 mM Imidazol, 20 mM Taurin, 50 mM K-MES, 0,5 mM DTT, 6,56 mM MgCl₂, 5,77 mM ATP, 15 mM Phosphokreatin, pH: 7,1) gegeben. Das Gewicht des entnommenen Muskelgewebes wurde mittels Feinwage (Excellence XS 2035, Mettler Toledo, Columbus, USA) ermittelt. Zur Muskelzellpermeabilisierung wurde Saponin (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) hinzugefügt (112). Die kleine Wunde an der Biopsiestelle wurde mittels elastischer Wundverschlußstreifen (Steri-Strip™, 3M Health Care, Neuss, Deutschland) verschlossen. Zusätzlich erfolgte eine Abdeckung mit einem Transparentverband mit

nicht klebender Wundauflage (Tegaderm TM+ Pad 3M Health Care, Neuss, Deutschland). Zur Vermeidung der Entstehung eines Hämatoms wurde für 24 Stunden einen Druckverband angelegt.

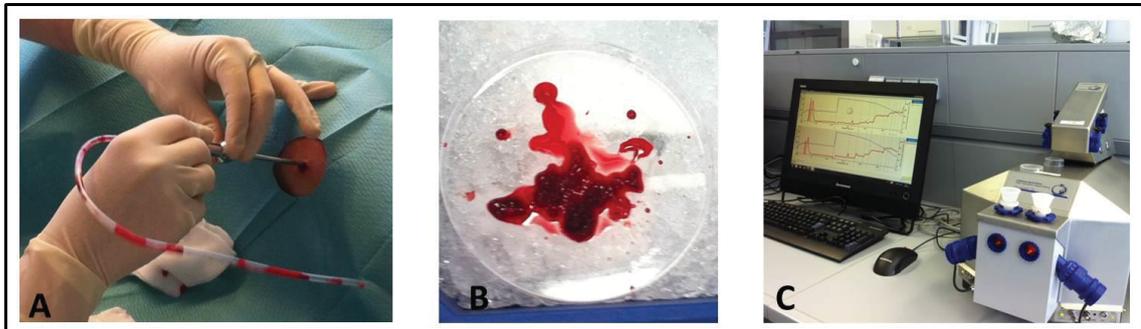


Abbildung 2: Ablauf und Analyse der Muskelbiopsie.

(A) Entnahme aus dem *Musculus vastus lateralis* mit Hohlnadel, (B) Entnommenes Biopsat, (C) Oxygraph zur Hochauflösungsrespirometrie.

3.7.3 Indirekte Kalorimetrie

Durch die Analyse des Sauerstoffverbrauchs (VO_2) und der Kohlendioxidabatemung (VCO_2) in Inspirations- und Expirationsluft ermöglicht die indirekte Kalorimetrie die Bestimmung des Ruheenergieumsatzes in kcal/d (REE, resting energy expenditure) und des respiratorischen Quotienten ($RQ = VCO_2 / VO_2$). REE wurde mittels Weir-Gleichungen berechnet [$REE = (1,106 \times VCO_2 + 3,941 \times VO_2) \times 1,44$ in kcal/d] (113). Die Kalorimetrie wurde mittels eines geeichten Gerätes (CareFusion, Höchberg, Deutschland) durchgeführt. Gemessen wurde vor und nach der Intervention und zur zusätzlichen Bestimmung der metabolischen Flexibilität ($\Delta RQ = RQ_{Clamp} - RQ_{baseline}$) in der Steady State Periode des EHC-Tests. Die Probanden wurden gebeten, während der Durchführung der Kalorimetrie nicht zu sprechen, sich nicht zu bewegen und nicht einzuschlafen. Zur Messung wurde den Probanden eine durch seitlich angebrachte Folien abgedichtete Haube über den Kopf gesetzt (s. Abbildung 3). So war eine kontinuierliche Zu- und Abfuhr der Atemgase möglich (114).



Abbildung 3: Versuchsaufbau zur Durchführung der indirekten Kalorimetrie.

3.7.4 Euglykämisch-hyperinsulinämischer Clamp-Test

In den letzten zwei Stunden des Studientages wurde ein EHC-Test durchgeführt. Hierbei wird eine kontinuierliche Insulindosis appliziert und je nach Insulinsensitivität des Probanden zum Erreichen des Blutzuckerzielwertes von 90 mg/dl eine variable Menge an Glukose infundiert. Der EHC-Test ermöglichte es, die Ganzkörperinsulinsensitivität der Probanden nach den Interventionen zu bestimmen und mögliche fettinduzierte Effekte festzustellen. Für die Durchführung des EHC-Tests wurde je eine Venenverweilkanüle (s.o.) am rechten und linken Arm in eine Cubitalvene gelegt und mit einer Kanülenfixierung (s.o.) gesichert. Um die Blutabnahme zu erleichtern war der Venenverweilkatheter am linken Arm zusätzlich mit einem Dreivegehahn verbunden. Am rechten Arm wurde die Venenverweilkanüle mit zwei Dreivegehähnen konnektiert (Abbildung 4B). So wurde dort das Insulin mittels Perfusor (Abbildung 4B2, Perfusor®Space, B/BRAUN, Melsungen, Deutschland) und die mit deuterierter Glukose angereicherte Glukoselösung 20% (Abbildung 4B3, HOT-GINF) mittels Infusomat (Infusomat®Space B/BRAUN, Melsungen, Deutschland) infundiert.

Tabelle 4: Zusammensetzung der Infusionslösungen des EHC-Tests.

Infusionslösungen des Clamp-Tests	Zusammensetzung
Insulininfusion	<ul style="list-style-type: none"> • 46,75 ml NaCl Lösung 0,9% (s.o.) • 50 U Insulin = 1,25 ml (Insuman Rapid 40 U/ml, Sanofi-Aventis GmbH, Frankfurt am Main, Deutschland) • 2 ml Blut des Probanden (s. Abbildung 4A)
HOT-GINF	<ul style="list-style-type: none"> • 490 ml Glukose Lösung 20% (B/BRAUN, Melsungen, Deutschland) • 2 g (10 ml) D2 Glukose (6,6-²H₂)Glukoselösung 20%, Deuterierungsgrad $\geq 98\%$ (Profil GmbH, Neuss, Deutschland)

Zur Messung der Insulinsensitivität erfolgte nach der Infusion eines Bolus über acht Minuten [(Bolusrate = (Körperoberfläche (m²) x 80 (mU/m²/min) x 60 (min / 1000))], eine kontinuierliche Insulininfusion nach festgelegter Rate [kontinuierliche Infusionsrate = (Körperoberfläche (m²) x 40 (mU/m²/min) x 60 (min)) / 1000]. Ziel war es, in der letzten halben Stunde des EHC-Tests (Steady State Periode) eine Blutglukose von 90 mg/dl zu erreichen. Zur engmaschigen Kontrolle der Blutglukose während des EHC-Tests erfolgten im Abstand von zweieinhalb bis fünf Minuten über den Zugang am linken Arm kleine Blutabnahmen (0.1 ml) (Abbildung 4C). Um den Zielwert zu erreichen, musste, je nach Insulinsensitivität des Probanden, die Infusionsrate der Glukoselösung (HOT-GINF) angepasst werden. Aus der Rate der in der letzten halben Stunde des EHC-Tests infundierten Glukoselösung sowie dem Körpergewicht ließ sich der M-Wert als Maß für die Insulinsensitivität mittels folgender Formel berechnen: $200 \times \text{Glukoseinfusionsrate der letzten halben Stunde im Steady State (ml/h)} / (\text{Körpergewicht in kg} \times 60)$.

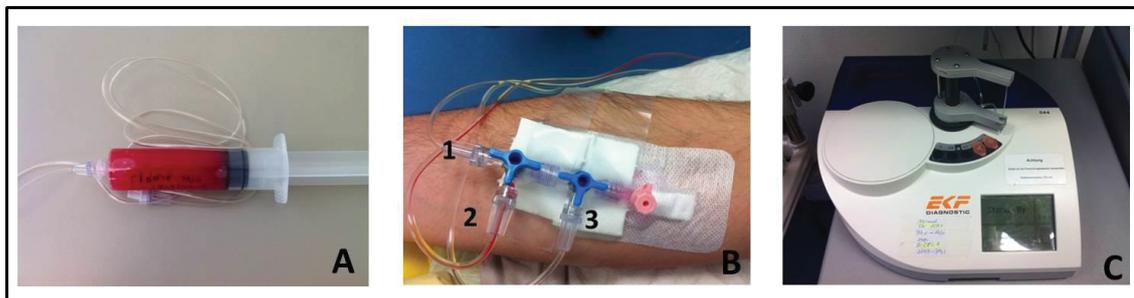


Abbildung 4: Versuchsaufbau des euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamp-Tests.

(A) Mit Probandenblut vermisches Insulin in Perfusorspritze, (B) Venenverweilkanüle mit zwei 3-Wegehähnen zur (1) (6,6-²H₂)Glukose Infusion, (2) Insulininfusion und (3) HOT-GINF Infusion, (C) Blutglukosemessgerät zur engmaschigen Kontrolle der Blutglukose.

3.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten wurde mit SPSS 20.0 durchgeführt. Die Normalverteilung der Daten wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov Test geprüft. Analysiert wurden die normalverteilten Daten mit parametrischen und die nicht-normalverteilten Daten mit den entsprechenden nicht-parametrischen Methoden. Die kumulative Konzentration der metabolischen Parameter sechs bis acht Stunden nach der Fettaufnahme ist als AUC (area under the curve) beschrieben. Die AUCs wurden anhand der trapezoidalen Regel berechnet. Der Vergleich der Studienparameter zwischen den drei Interventionen (KON, SAFA, PUFA) erfolgte mittels ANOVA Repeated Measures und die Bonferroni Post Hoc Regel wurde zur Kontrolle für multiple Vergleichsanalysen angewandt. Die Korrelationen zwischen parametrischen Daten wurden mit Pearson (normalverteilte) bzw. Spearman (nicht normalverteilte) Korrelationskoeffizienten dargestellt. Unterschiede mit einem P-Wert <0.05 wurden als statistisch signifikant angesehen.

4. Ergebnisse

4.1 Demographische und anthropometrische Charakteristika der Studienkohorte

Das Studienkollektiv bestand aus zehn jungen (25 ± 1 Jahre), klinisch gesunden (s. Kap. 3.2) Männern mit einem BMI von 20-25 kg/m^2 und einem physiologischen Hüftumfang (s. Tabelle 5: Charakteristika der Studienkohorte.). Wie in Tabelle 5 ersichtlich, bestand bei den Probanden kein Anhalt auf vorbestehenden T2DM, Glukosetoleranzstörung oder Hyperlipidämie (alle Parameter im Referenzbereich).

Tabelle 5: Charakteristika der Studienkohorte.

Parameter	Mittelwert \pm STABW (n=10)
Alter (Jahre)	25 ± 1
Body Mass Index (BMI, kg/m^2)	24.8 ± 0.3
Hüftumfang (cm)	87 ± 2
Nüchtern glukose (mg/dl)	79 ± 2
Nüchtern insulin ($\mu\text{IU/ml}$)	9.7 ± 1.0
M-Wert (mg/kg/min)	7.3 ± 0.8
Freie Fettsäuren, nüchtern (mmol/l)	0.58 ± 0.11
Freie Triglyzeride, nüchtern (mg/dl)	81 ± 11

STABW=Standardabweichung

4.2 Zusammensetzung der Interventionsfette

Verglichen wurden die Effekte der drei unterschiedlichen Studieninterventionen SAFA PUFA und KON (s. Tabelle 3). Tabelle 6 stellt die genaue Zusammensetzung der für die Interventionsemulsionen verwendeten Fette (Palmöl und Distelöl) dar. Hierbei lässt sich erkennen, dass die SAFA- Intervention (Palmölemulsion) nicht nur aus rein gesättigten FS (Palmsäure) bestand, sondern auch geringe Anteile von einfach ungesättigten FS (Ölsäure) und dreifach ungesättigten FS (Linolensäure) aufwies. Die PUFA- Intervention (Distelölemulsion) bestand zu 74% aus mehrfach ungesättigten FS (Linolensäure).

Tabelle 6: Fettsäurezusammensetzung der Interventionsemulsionen laut Herstellerangaben

Intervention	Palmsäure	Ölsäure	Linolensäure
KON:	0%	0%	0%
SAFA:	48%	35%	8%
PUFA:	6%	12%	74%

KON = Kontrolle (Wasser), SAFA = saturated fatty acids (Bio-palm, Landkrone, St. Ingbert, Deutschland), PUFA = polyunsaturated fatty acids (Mazola, Unilever Deutschland GmbH, Hamburg, Deutschland), s. Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft.

4.3 Vergleich der Effekte von SAFA und PUFA auf die Zielparameter

Im Rahmen der Studie wurden die Effekte von SAFA und PUFA auf verschiedene Zielparameter erfasst. Zielparameter waren Plasmaglukose und Insulin, Parameter des Fettstoffwechsels (Chylomikronen, FFS), Inkretine, die mitochondriale Funktion im Muskel, die metabolische Flexibilität (RQ) sowie die gewebespezifischen Insulinsensitivitäten in Muskel (M-Wert), Leber (EGP-Suppression) und Fettgewebe (FFS-Suppression).

4.3.1 Insulin und Glukose

Zunächst sollte die direkte Wirkung von SAFA und PUFA auf die Plasmaglukose und das Plasmainsulin über acht Stunden Versuchsdauer untersucht werden. Wie in der Abbildung 5A ersichtlich blieb die Plasmaglukosekonzentration über einen Zeitverlauf von sechs Stunden nach Intervention ohne signifikante Veränderung. Nach sechs Stunden erfolgte der EHC-Test. Es fanden sich weder signifikante Unterschiede der Glukosekonzentration nach den Interventionen mit SAFA und PUFA im Vergleich zueinander noch im Vergleich zu KON. Über einen Zeitraum von sechs Stunden hinweg zeigte sich ein konstanter Insulinspiegel. Der EHC-Test führte zur erwarteten Erhöhung der Insulinspiegel, die sich jedoch zwischen den einzelnen Interventionsarmen nicht unterschieden. Das Konzentrations-Zeit Integral (AUC) für Glukose und Insulin zeigte infolgedessen ebenfalls keine signifikanten Differenzen zwischen den Interventionsarmen (Abbildung 5B).

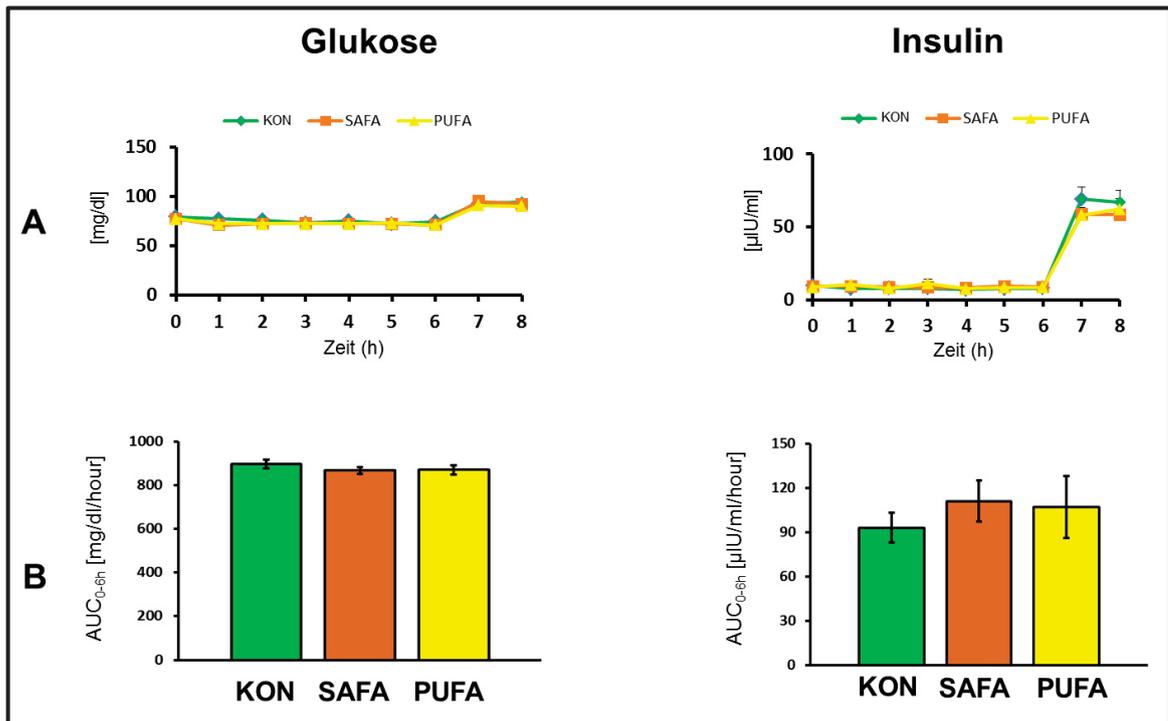


Abbildung 5: Effekt der Interventionsarme auf Blut-Glukose und -Insulin im zeitlichen Verlauf und als Integral.

(A) Konzentrations-Zeit-Verlauf im Stundenintervall von Glukose und Insulin. (B) AUC der gesamten Protokolldauer für Glukose und Insulin. Gezeigt werden Mittelwerte \pm Standardfehler für n=10 Experimente.

4.3.2 Parameter des Fettstoffwechsels (Chylomikronen, FFS)

Über den Zeitverlauf des Experiments erfolgte eine Messung der FFS und Chylomikronen, um den Effekt der Intervention auf diese Parameter zu untersuchen (s. Abbildung 6). Sowohl nach der Intervention mit SAFA als auch mit PUFA zeigten die FFS in Bezug auf ihre Blutkonzentration zunächst keine signifikante Änderung im Vergleich zur Kontrolle. Es ließ sich jedoch vier Stunden nach der Intervention mit SAFA eine leichte Tendenz zu erhöhten Konzentrationen von FFS erkennen. Nach sechs Stunden zeigte sich bei beiden Interventionen ein EHC-Test bedingter Konzentrationsabfall der FFS (s. Abbildung 6). Ein Anstieg der Chylomikronen zeigte sich nach ca. zwei Stunden sowohl bei der Intervention mit SAFA als auch bei der Intervention mit PUFA. Die Betrachtung des Konzentrations-Zeit-Integrals (s. Abbildung 6B) ergab eine signifikant höhere Plasmakonzentration von FFS nach der Intervention mit SAFA im Vergleich zur Intervention mit PUFA. Dahingegen unterschieden sich beide Interventionsarme nicht signifikant von der Kontrollintervention. Die Analyse der Chylomikronen zeigte demgegenüber in der AUC Analyse signifikant

erhöhte Konzentrationen bei den Interventionsgruppen SAFA und PUFA im Vergleich zur Kontrolle. Zwischen den Interventionsarmen SAFA und PUFA ließ sich jedoch kein signifikanter Konzentrationsunterschied feststellen.

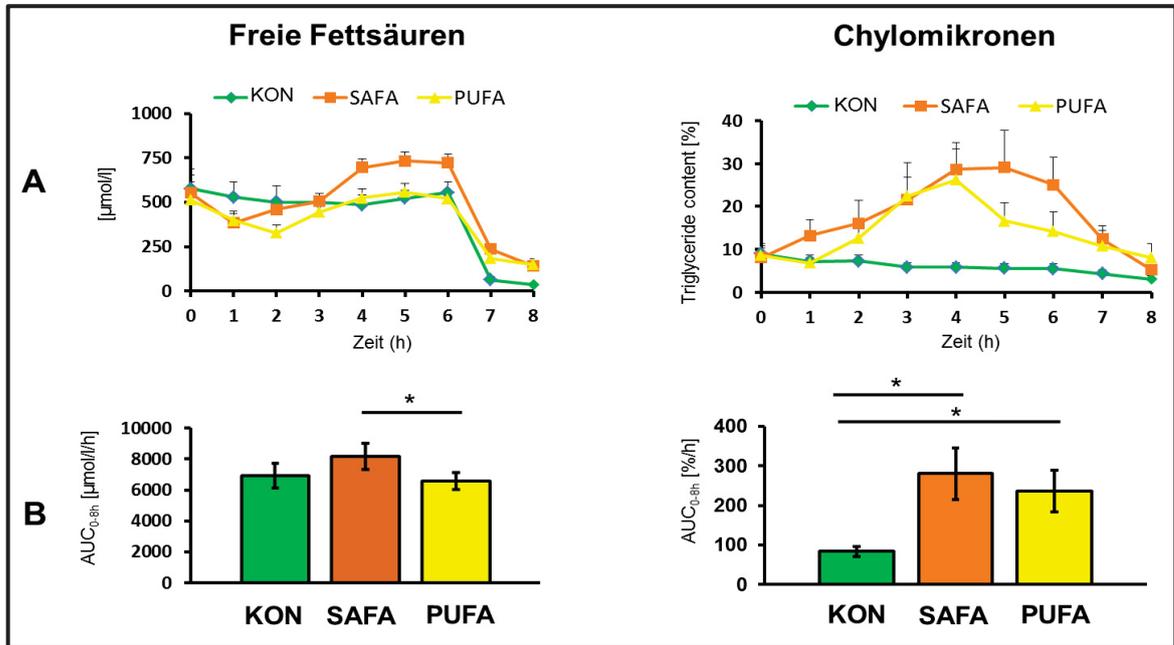


Abbildung 6: Effekt der Interventionsarme auf freien Fettsäuren und Chylomikronen im zeitlichen Verlauf.

(A) Konzentrations-Zeit Verlauf im Stundenintervall von freien Fettsäuren und Chylomikronen. (B) AUC der gesamten Protokolldauer für die Metaboliten. Gezeigt werden Mittelwerte \pm Standardfehler für $n=10$ Experimente. * = $p < 0.05$

4.3.3 Inkretine

Um die Wirkung der Interventionen auf die Sekretion von Inkretinen zu testen, wurden GIP, GLP-1 und Glukagon nach der jeweiligen Intervention seriell im Plasma gemessen (s. Abbildung 7). Sowohl beim Interventionsarm mit SAFA als auch beim Interventionsarm mit PUFA konnte ein zügiger Anstieg der gemessenen Inkretine unmittelbar nach der Intervention festgestellt werden (Abbildung 7A). Wie Abbildung 7B zeigt, sind die AUCs der Interventionen mit SAFA und PUFA sowohl für GIP und GLP-1 als auch für Glukagon signifikant im Vergleich zur Kontrolle erhöht. Es zeigt sich bei keinem der drei gemessenen Inkretine ein signifikanter Unterschied zwischen den Interventionen mit SAFA und PUFA (Abbildung 7B). Im Rahmen der GLP-1 Messung lässt sich jedoch ein Trend zu mehr GLP-1 Freisetzung nach PUFA im Vergleich zu SAFA (Abbildung 7A, B) beschreiben.

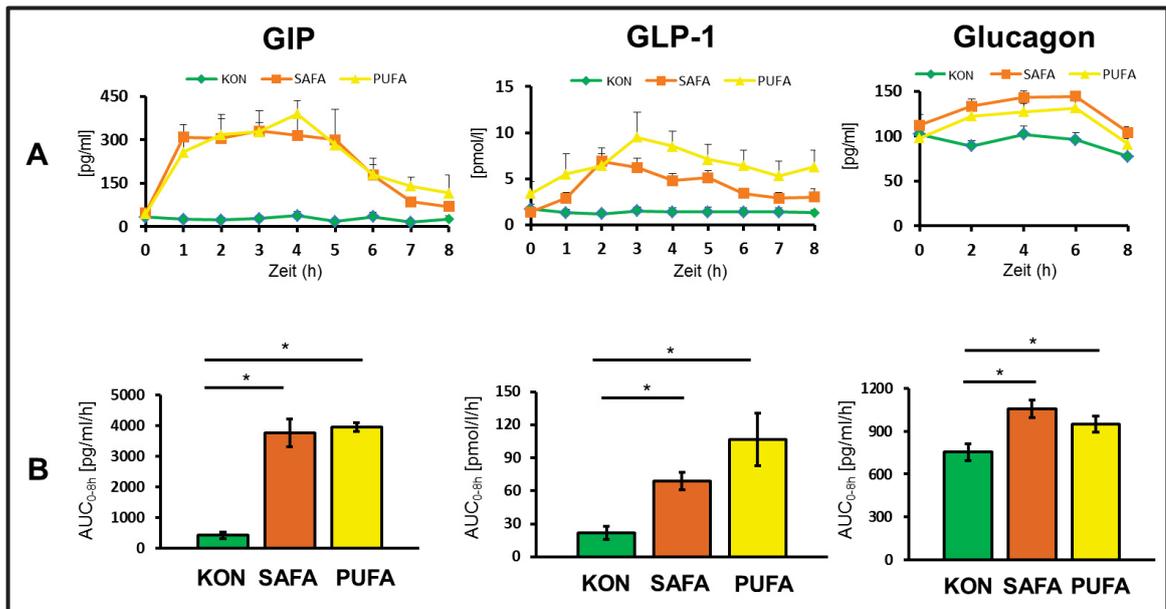


Abbildung 7: Effekt der Interventionsarme auf die Inkretine im zeitlichen Verlauf.

(A) Konzentrations-Zeit Verlauf im Stundenintervall von GIP, GLP-1 und Glukagon. (B) AUC der gesamten Protokolldauer für die Metaboliten. Gezeigt werden Mittelwerte \pm Standardfehler für n=9-10 Experimente. * = $p < 0.05$.

4.3.4 Metabolische Flexibilität

Die metabolische Flexibilität wurde im Steady-State des EHC-Tests mittels Kalorimetrie (s. Kap. 3.7.3) gemessen. Wie in Abbildung 8 dargestellt, zeigte sich im Baseline-EHC bezüglich der metabolischen Flexibilität kein signifikanter Unterschied zwischen den Interventionsarmen mit SAFA und PUFA. Zudem konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Interventionen mit SAFA und PUFA und der Kontrollintervention mit Wasser festgestellt werden.

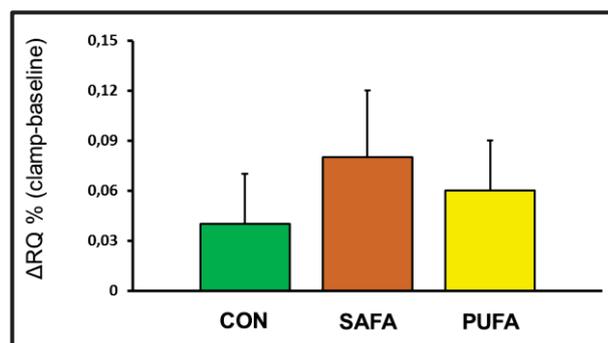


Abbildung 8: Messung der metabolischen Flexibilität mittels Kalorimetrie in den Interventionsarmen.

ΔRQ = Delta des Respiratorischen Quotienten (Berechnungen s. Kap. 3.7.3)

4.3.5 Gewebespezifische Insulinsensitivität

Um die individuellen Auswirkungen der Interventionen auf die Insulinsensitivität von Muskel, Leber und Fettgewebe beurteilen zu können, wurden die Marker für die gewebespezifischen Insulinsensitivitäten separat betrachtet. Als Maß für die Ganzkörperinsulinsensitivität im Muskel erfolgte die Messung des M- Wertes. Zur Feststellung der Insulinsensitivität in der Leber wurde die EGP-Suppression gemessen und als Maß der Insulinsensitivität im Fettgewebe die FFS-Suppression.

Für den Muskel zeigte sich sowohl bei der Intervention mit SAFA als auch mit PUFA ein signifikant erniedrigter M-Wert im Vergleich zur Kontrolle. Ebenso fand sich ein signifikant niedrigerer M-Wert beim Interventionsarm mit SAFA im Vergleich zum Interventionsarm mit PUFA (Abbildung 9, links). In der Leber ließ sich zwischen den Interventionsarmen kein signifikanter Unterschied bezüglich der EGP-Suppression feststellen, jedoch war die Suppression bei der Intervention mit PUFA tendenziell stärker ausgeprägt als bei der Intervention mit SAFA (Abbildung 9, Mitte). Die Studie zeigte sowohl nach der Intervention mit SAFA also auch nach der Intervention mit PUFA eine signifikant verminderte Suppression der FFS im Vergleich zur Kontrolle. Zwischen SAFA und PUFA ließ sich kein signifikanter Unterschied feststellen (Abbildung 9, rechts).

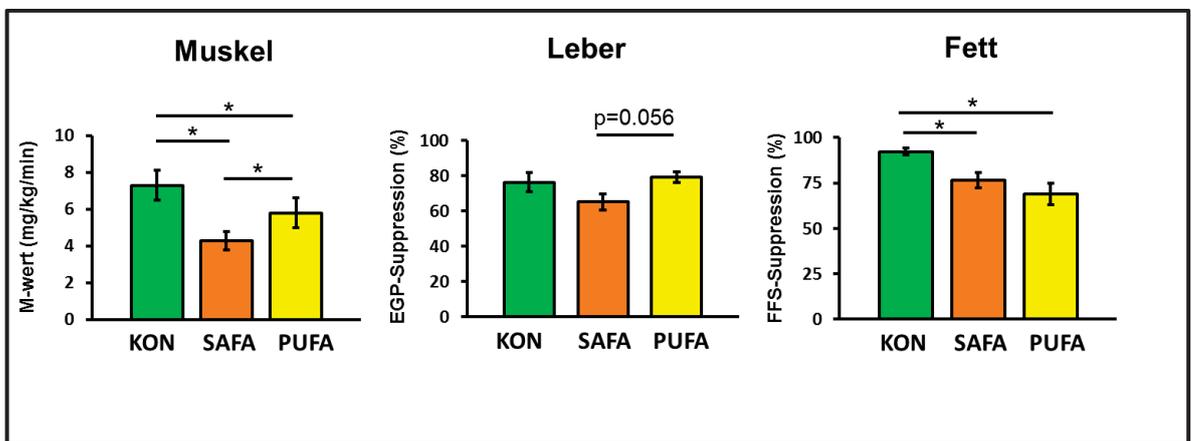


Abbildung 9: Bestimmung der Insulinsensitivität von Muskel, Leber und Fett nach der Intervention.

Links: im Muskel (M-Wert), **Mitte:** in der Leber (EGP-Suppression), **Rechts:** im Fettgewebe (FFS-Suppression), n=9-10. * $p < 0,05$. Mittelwert \pm Standardfehler. EGP= endogene Glukoseproduktion, FFS= freie Fettsäuren.

4.3.6 Mitochondriale Funktion des Muskels

Um die mitochondriale Funktion des Muskels zu bestimmen, wurde in den Muskelbiopsien die respiratorische Aktivität vor und zweieinhalb Stunden nach der jeweiligen Intervention gemessen (s. Kap. 3.7.2). Hierfür wurde die maximale entkoppelte Respiration mit zwei Protokollen (β -Oxidation, Krebs Zyklus) bestimmt. Bei keinem der beiden Protokolle zeigte sich ein signifikanter Effekt der Interventionen auf die maximale Respiration (s. Abbildung 10).

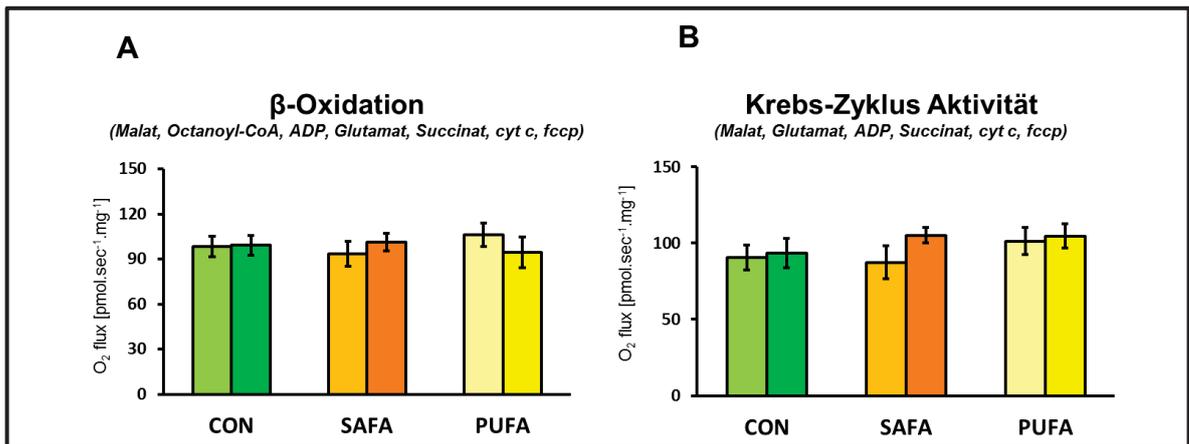


Abbildung 10: Mitochondriale Funktion des Muskels.

(A) Maximale Respiration nach Hinzugabe von Metaboliten mit Relevanz für die β -Oxidation. (B) Maximale Respiration nach Hinzugabe von Metaboliten mit Relevanz für den Krebs- Zyklus. Helle Farbe: basale Biopsie, dunkle Farbe: Biopsie 2,5h nach Intervention

4.4 Korrelationen von M-Wert mit Insulin stimulierter FFS-Suppression, der Konzentration von FFS, dem O₂-Fluss und der EGP-Suppression in den Interventionsarmen mit SAFA und PUFA

Wie Tabelle 7 aufführt, zeigte sich nach der Intervention mit SAFA eine signifikante positive Korrelation des M-Wertes mit der insulinstimulierten FFS-Suppression und eine signifikant negative Korrelation mit der gesamten FFS-Exposition (FFS AUC 0-8h). Nach der Intervention mit PUFA ließ sich keine Korrelation zwischen M-Wert und FFS-Suppression erkennen. Die Ganzkörperinsulinsensitivität nach der PUFA-Intervention zeigte hingegen eine signifikant negative Korrelation mit der FFS-Exposition (FFS AUC 0-8h) unter insulinstimulierten Bedingungen. Für die maximale respiratorische Kapazität der Mitochondrien in Muskelbiopsien (O₂ Flussrate in der Respirometrie) und die EGP-Suppression zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang mit dem M-Wert.

Tabelle 7: Korrelationsanalyse von M- Wert mit insulinstimulierter Suppression der freien Fettsäuren (FFS), der Konzentration von FFS, O2 Fluss und EGP Suppression in den Interventionsarmen SAFA und PUFA.

Korrelation	Intervention	Regressionskoeffizient (r)	Signifikanzwert (p)
FFS Suppression gegen M-Wert	SAFA	0,713	0,02
FFS Suppression gegen M-Wert	PUFA	0,391	0,2
FFS Konzentration (AUC) gegen M-Wert	SAFA	-0,628	0,05
FFS Konzentration (AUC) gegen M-Wert	PUFA	-0,675	0,03
O2 Fluss gegen M-Wert	SAFA	0,0008	0,98
O2 Fluss gegen M-Wert	PUFA	0,54	0,12
EGP Suppression gegen M-Wert	PUFA	0,48	0,33
EGP Suppression gegen M-Wert	SAFA	0,61	0,06

5. Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Hauptbefunde

Oral aufgenommene SAFA und PUFA induzierten einen vergleichbaren Anstieg der zirkulierenden Chylomikronen (um 180-230% im Vergleich zu KON), aber einen geringeren Anstieg von FFS nach PUFA. SAFA reduzierte die Ganzkörperinsulinsensitivität, die im Wesentlichen durch die Skelettmuskulatur bedingt ist, deutlich stärker als PUFA (40% vs. -20% verglichen mit der Kontrollbedingung). Die Insulinsensitivität der Leber war nach SAFA grenzwertig niedriger als nach PUFA. Sowohl SAFA als auch PUFA reduzierten die Insulinsensitivität des Fettgewebe (um 17-25% im Vergleich zu KON) und erhöhten die Sekretion von GLP-1, GIP und Glukagon um 800-850%. Die orale Aufnahme von SAFA oder PUFA hatte aber keine direkten Effekte auf die maximale respiratorische Kapazität der Muskulatur.

5.2 Einordnung der Studienbefunde in die bestehende Literatur

Das wesentliche Ergebnis dieser Pilotstudie ist, dass oral aufgenommene Fette abhängig von ihrer Fettsäurezusammensetzung (SAFA vs. PUFA) in unterschiedlichem Maße, muskuläre IR erzeugen. Während Studien mit intravenöser Gabe von Fetten den Zusammenhang zwischen FFS und IR mehrfach gezeigt haben (18, 42, 64, 69, 91) und sogar eine Dosis-Wirkung-Beziehung zwischen intravenöser Fettinfusion und Reduktion der insulinstimulierten Glykogensynthese und Glukoseoxidation des Muskels nachgewiesen haben (54), ist die Studienlage zur Wirkung peroraler Aufnahme von Fetten hingegen sehr heterogen. Tatsächlich fanden eine Vielzahl von Studien keinen oder nur einen geringen Effekt nach peroraler Fettaufnahme auf die Ganzkörperinsulinsensitivität (94, 95, 102). Andere Studien ebenso wie die Resultate dieser Arbeit (s. Abbildung 9) zeigten hingegen einen signifikanten Effekt oraler Fettaufnahme auf die Insulinsensitivität (69, 115). Die unterschiedlichen Befunde sollen im Folgenden in Bezug auf das Studiendesign der verschiedenen Interventionsstudien gewertet werden.

5.2.1 Interventionen, Interventionszeiträume und Probandenkollektive

Entscheidend zur Erklärung der unterschiedlichen Studienergebnisse könnten beispielsweise die Zusammensetzung der peroralen Fettmahlzeiten, der Verabreichungszeitraum sowie das untersuchte Probandenkollektiv sein:

Lopez et al. gaben jungen Probanden, die bereits an einer Fettstoffwechselstörung erkrankt

waren, eine einmalige Mischkostmahlzeit [Nudeln (30 g/m² Körperoberfläche), eine Scheibe dunkles Brot, ein Joghurt, entweder Olivenöl oder Butter (50 g/m² Körperoberfläche)]. Die durch die Mahlzeiten durchschnittlich aufgenommene Energie lag bei 800 kcal (72% Fett, 22% Kohlenhydrate, und 6% Protein). Der Fettanteil bei der mit Olivenöl angereicherten Diät bestand zu 81% aus MUFA und der Fettanteil bei der mit Butter angereicherten Diät zu 65,3% aus SAFA. Die Kontrollen erhielten weder Butter noch Olivenöl (96). Brons et al. gaben gesunden Probanden eine sogenannte „Western-Diet“ (60% Fett, 32,5% Kohlenhydrate, 7,5% Protein) über fünf Tage. Es ließ sich eine hepatische IR (reduzierte EGP-Suppression), jedoch keinerlei Veränderungen des M-Wertes als Maß der Ganzkörperinsulinsensitivität feststellen (94). In einer großen, randomisierten europäischen Studie [LIPGEN (102)] wurde bei Probanden mit einem epidemiologischen Risikoprofil (metabolisches Syndrom) über zwölf Wochen eine Mischkost aus vier isoenergetischen Diäten mit qualitativ und quantitativ unterschiedlichem Fettgehalt verabreicht (reich an SAFA vs. reich an MUFA vs. zweier kohlenhydratreichen und fettarme Diäten angereichert mit langkettigen n3-PUFA vs. Placebo). In dieser Studie zeigte sich keine Veränderung der IR.

Im Gegensatz dazu zeigten Giacco et al. acht Stunden nach einer einmaligen standardisierten fettreichen Mahlzeit (Protein 15%, Kohlenhydrate 34%, Fett 51%) bei jungen normalgewichtigen Probanden, die einen familiären Hintergrund mit Adipositas aufwiesen, eine verringerte Insulinsensitivität, gemessen am HOMA-IR (116). Im Gegensatz zu den beschriebenen Studien wurden in der vorliegenden Arbeit nach zuvor definierten Kriterien (s. Kap. 3) die Auswirkungen einer einmaligen Gabe einer reinen Fettemulsion auf metabolisch gesunde Probanden untersucht. Die Intervention bestand ausschließlich aus Fetten und nicht aus Mischkost, so dass sich Effekte durch andere Nahrungsbestandteile (Proteinen und Kohlenhydraten) in Bezug auf Resorption, Plasmaspiegel und Hormonwirkung vermeiden ließen. Nicht nur in diesen Faktoren bestehen Unterschiede zu bereits publizierten Studien: Im Weiteren soll auf die Unterschiede in Messmethode und Messzeitpunkte der IR eingegangen werden.

5.2.2 Messzeitpunkte und Messmethoden der Insulinsensitivität

Die Messmethode und der Messzeitpunkt sind entscheidend an der Vergleichbarkeit der IR zwischen den Studienergebnissen beteiligt:

So testeten Brons et al. die IR erst drei Tage nach der „Western-Diet“ (94). Zur

Verwendung kam hier wie in der vorliegenden Arbeit der M-Wert aus dem EHC-Test. Lopez et al. bestimmten drei Stunden nach Einnahme der Mahlzeit, dem Zeitpunkt mit der höchsten Triglyzeridkonzentration in ihrer Studie, die Insulinsensitivität mittels HOMA-IR (96). In der LIPGEN-Studie (102) und in der Studie von Giacco et al. erfolgte die Messung der IR ebenfalls mittels HOMA-IR (116). Der HOMA-IR ist eine klinisch sehr praktische, jedoch eher vereinfachte und damit möglicherweise nicht ausreichend sensitive Messmethode zur Bestimmung der IR (s. Kap.: 1.4.1). Für die Interpretation des HOMA Schwellenwertes zur Diagnosestellung der IR gibt es Korrekturgrößen wie den BMI oder Triglyzeride selber sowie den genetischen Hintergrund (117). Der HOMA-IR besitzt daraus resultierend einen relativ weiten Graubereich (s. Kap. 1.4.1). Deshalb ist dieser Index sicher ein für die klinische Routine hervorragendes Stratifizierungswerkzeug, jedoch ist er nicht so genau und unabhängig von interferierenden Größen wie der durch den EHC-Test erhobene M-Wert. Aufgrund der Präzision sowie der Unabhängigkeit des M-Wertes und des planbaren Umfeldes wurde der EHC-Test in der vorliegenden Arbeit als Methode zur Bestimmung der IR ausgewählt.

5.2.3 Einordnung der Befunde zur Insulinsensitivität von Leber und Fettgewebe nach Intervention

Der für den Muskel signifikante Effekt auf die IR (M-Wert) zeigte sich tendenziell auch für die Insulinsensitivität der Leber. Nach der Intervention mit SAFA zeigte sich im Vergleich zu PUFA tendenziell eine Reduktion der EGP-Suppression (P-Wert 0,056). Hingegen zeigte sich bezüglich der EGP-Suppression weder nach SAFA noch nach PUFA ein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrolle (s. Abbildung 9). Die höhere EGP-Suppression nach PUFA könnte einen Hinweis darauf geben, dass nach der Aufnahme von PUFA die Insulinwirkung in der Leber nicht oder weniger eingeschränkt ist als nach der Gabe von SAFA. Bei einer vergrößerten n-Zahl wäre dieser Effekt mutmaßlich statistisch signifikant geworden. Nowotny et al. fanden überraschenderweise keinen Effekt der angewandten Soja-Intervention auf die EGP-Suppression (60). Allerdings wurde in der vorliegenden Arbeit SAFA oder PUFA spezifische Interventionen vorgenommen und keine Kombination/Mischpräparat wie in der früheren Studie.

Interessanterweise fand sich im Vergleich zu den vorher genannten Befunden kein Unterschied, sondern vielmehr ein gleichsinnig signifikanter Effekt auf die IR im Fettgewebe, gemessen an der FFS-Suppression der beiden Interventionsarme. Trägt man

die FFS-Suppression gegen den M-Wert auf, so ergibt sich zumindest für die SAFA-Intervention eine statistisch signifikante positive Korrelation von FFS-Suppression und M-Wert (s. Tabelle 7). Eine negative Korrelation findet sich auch für die Menge der gemessenen FFS vor der IR Testung und den M-Wert. Interessanterweise ergibt sich eine ähnliche negative Korrelation zwischen M-Wert und der Menge an FFS auch für die PUFA-Intervention, allerdings bei niedrigeren Mengen von FFS und höheren M-Werten. Der Zusammenhang zwischen FFS-Suppression und M-Wert ist hingegen im PUFA-Interventionsarm aufgehoben. In dieser Pilotstudie, kann der fehlende signifikante Zusammenhang durchaus aufgrund der geringen Datenpunktemenge und der Bündelung in einem engen M-Wert Bereich zustande gekommen sein. Hier wäre eine Erhöhung der Studienteilnehmer in diesem Interventionsarm mit der Erwartung eines signifikanten Zusammenhangs verknüpft.

5.3 Mögliche pathophysiologische Begründung der unterschiedlichen Wirkungen von SAFA und PUFA

5.3.1 Chylomikronen und freie Fettsäuren

Nowotny et al. zeigten bereits, dass beim gesunden Menschen schon die einmalige orale Aufnahme von 100 ml Sojaöl (61% PUFA, 23% MUFA, und 16% SAFA) eine IR (gemessen am im Vergleich zur Kontrolle reduzierten M-Wert) induziert (69). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit erweitern diese bekannten Daten nun um die Erkenntnis, dass die Indizierung einer IR u.a. abhängig von der Fettsäurezusammensetzung (SAFA vs. PUFA) ist. SAFA induzieren eine stärkere IR im Muskel als PUFA (s. Abbildung 9).

Die Daten der vorliegenden Studie zeigen, dass es erst vier Stunden nach der einmaligen oralen Bolusgabe der Fettemulsion zu einem messbar signifikanten Anstieg der FFS im SAFA Interventionsarm kommt. Der PUFA Interventionsarm zeigte hingegen keine signifikant zur Kontrollintervention unterschiedliche Konzentration der FFS (s. Abbildung 6). Damit käme es auch erst nach vier Stunden zu einer quantitativ bedeutsamen Interaktion der FS mit dem peripheren Gewebe in Bezug auf die Induktion einer IR. Zuvor gab es keinerlei Veränderungen der messbaren Blutglukose.

Die Daten dieser Studie zeigen zudem nach einem anfänglich kontinuierlichen Anstieg der Triglyzeridfraktion der Chylomikronen in beiden Interventionsarmen eine tendenziell geringere Belegung der Chylomikronen mit Triglyzeriden im PUFA-Interventionsarm im

Vergleich zum SAFA-Interventionsarm (s. Abbildung 6). Zeitverlauf und Amplitude der Veränderung sind durchaus mit bereits publizierten Daten vergleichbar (69). Der Unterschied in Bezug auf die Intervention (SAFA vs. PUFA) hingegen ist noch nicht in der Literatur beschrieben. Ein Erklärungsansatz für den beobachteten Effekt auf die Triglyzeridfraktion der Chylomikronen könnte der Umstand sein, dass PUFA nach enteraler Aufnahme vermehrt in Phospholipide und Cholesterine eingebaut werden und damit nicht mehr als Triglyzeride in den Chylomikronen zu messen sind (118, 119). Für diese Hypothese spricht unter anderem die Tatsache, dass in der PUFA Intervention signifikant weniger FFS während des Beobachtungszeitraumes messbar waren als im SAFA Interventionsarm, der im Vergleich zur Kontrollintervention signifikant mehr FFS im Blut zeigte. Zu bedenken ist jedoch auch, dass der im Vergleich zur SAFA- und PUFA-Gruppe längere Nüchternzeitraum der Kontrollgruppe (keine Energiezufuhr in Form von Fettemulsionen) die Lipolyse angeregt haben könnte. Insofern wäre ein „falsch hoher“ FFS-Spiegel der Kontrollgruppe entstanden, was auch die tendenziell niedrigen FFS-Spiegel nach Gabe der Emulsion der PUFA-Gruppe im Vergleich zur Kontrolle erklären könnte. Welcher Effekt auch immer für die geringere Triglyzeridfraktion der Chylomikronen bzw. die nicht signifikant unterschiedlichen FFS nach der PUFA-Intervention im Vergleich zur Kontrollgruppe verantwortlich ist, er könnte unter Umständen zu den Effekten auf den M-Wert beigetragen haben.

5.3.2 Mögliche Rolle der Mitochondrien

Interventionsstudien, die unter anderem eine Veränderung der metabolischen Flexibilität (ΔRQ) vor und nach Fett-Interventionen bestimmten (86), zeigten wie auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit keinen signifikanten Unterschied zwischen der Intervention und einer Kontrollgruppe. Auch Daten an Zellkulturen oder *in silico* Vorhersagemodellen (120) zeigten bezüglich der metabolischen Flexibilität (ΔRQ) keine signifikanten Veränderungen wenn man den Glukose-Flux in die Zelle reduzierte.

Passend zu diesen Befunden zeigte sich in der vorliegenden Studie zudem kein Einfluss der Fettinterventionen auf die mitochondriale Funktion des Muskels in Bezug auf β -Oxidation und Krebs-Zyklus (s. Abbildung 10). Grundsätzlich ist die Studienlage zum Mechanismus der fettinduzierten IR des Muskels in Bezug auf die Funktion und Stoffwechselwege der Mitochondrien heterogen. Auf der einen Seite gibt es klinische Daten, die einen Zusammenhang zwischen IR und der Anzahl an Mitochondrien und einer

beeinträchtigten Mitochondrienfunktion nahelegen (121), auf der anderen Seite zeigen Studien an Patienten mit T2DM, dass die Mitochondrienfunktion nicht notwendigerweise beeinträchtigt sein muss (122). Es wurde postuliert, dass die vermehrte FFS-Aufnahme zu inkompletter Fettoxidation und intrazellulärer Fettakkumulation führen könnte. Auch können FFS oxidativen Stress verursachen und somit die mitochondriale Funktion in gewissem Sinne toxisch vermindern (122). Der fehlende Nachweis einer beeinträchtigten Mitochondrienfunktion in dieser Studie könnte auch mit einem studienprotokoll-inhärenten Faktor zusammenhängen. Laut Versuchsprotokoll wurden die Muskelbiopsien basal und zweieinhalb Stunden nach Beginn der Interventionen durchgeführt. Im Gegensatz zur Studie von Nowotny et al. (69) (fünf Stunden nach Intervention) wurde dieser frühe Biopsiezeitpunkt gewählt, um mögliche metabolische Veränderungen in den Mitochondrien (maximale Respiration bezgl. β -Oxidation und Aktivität des Krebs-Zyklus) bereits vor Entstehung einer IR zu dokumentieren. Der Zeitpunkt der zweiten Muskelbiopsie wurde in Anlehnung an die Studie von Szendrödi et al. (86) gewählt: Hier beobachtete man bereits zweieinhalb Stunden nach intravenöser Fettgabe einen Anstieg der toxischen Fettmetabolite (DAG, Ceramiden u.a.), die mit einer verminderten Insulinsensitivität und verminderter mitochondrialer Kapazität im Skelettmuskel assoziiert sind. Dieser Pathomechanismus könnte daher der nachfolgenden IR vorangehen. Wie bereits erwähnt, zeigte sich der Peak der FFS in der SAFA Gruppe erst vier Stunden nach Gabe der Fettemulsionen. Es kann also spekuliert werden, dass sich bei einer später terminierten Muskelbiopsie, beispielsweise fünf Stunden nach der Fettintervention, Effekte auf die Mitochondrien gezeigt hätten. Andere Studien mit intravenöser Fettgabe konnten tatsächlich erst nach sechs Stunden, nicht aber nach drei Stunden eine verminderte ATP Produktion finden. Das heißt, dass die mitochondrialen Effekte, gemessen am ATP, auch hier erst nach der Verminderung der Insulinsensitivität aufgetreten waren (81).

5.4 Stärken und Schwächen der Studie

Diese Studie wurde durchgeführt, um den akuten Effekt einer einmaligen oralen Zufuhr von SAFA oder PUFA auf die Insulinsensitivität bei jungen gesunden Probanden zu testen. Die klinische Relevanz unserer Studie ergibt sich aus der Überlegung, dass durch die enterale Resorption von Fetten die chronisch erhöhten Fettsäurekonzentrationen bei adipösen und T2DM Patienten physiologischer imitiert werden können als durch die intravenöse Infusion. Aspekte wie Magen-Darmpassage und Resorptionsvorgänge fließen

mit in die Studienergebnisse ein. Hierin liegt natürlich auch ein gewisser Unsicherheitsfaktor, da die physiologischen Vorgänge der Fettaufnahme von Proband zu Proband verschieden sein könnten. Durch Festlegung einer definierten Studienkohorte (s. Kap. 3.2) wurde versucht die individuellen Unterschiede zu begrenzen. Diese Arbeit ist die logische Fortführung des Protokolls von Nowotny et al., die bereits im Vergleich intravenöser und peroraler Fettbelastung zeigen konnten, dass die einmalige orale Fettbelastung in vergleichbarem Maße IR erzeugt wie die einmalige intravenöse Gabe (69). In dieser Arbeit wurde der EHC-Test als Goldstandardmethode für die Bestimmung der Ganzkörperinsulinsensitivität eingesetzt und somit eine größtmögliche Aussagekraft in Bezug auf IR ermöglicht. Die Studienergebnisse sind demnach sehr verlässlich gemessen und der beobachtete Effekt der IR in beiden Armen mit größerer IR im SAFA-Arm statistisch trotz kleiner n-Zahl signifikant. Um potentielle Mechanismen des erwarteten Effektes in den Mitochondrien aufzudecken, wurde auch hierfür der Goldstandard zur Bestimmung der maximalen mitochondrialen Respiration gewählt (Muskelbiopsien und Hochauflösungsrespirometrie mittels eines Oxygraphen). Wie bereits dargelegt, besteht in diesem Zusammenhang die Möglichkeit, dass der Biopsie-Zeitpunkt mit zweieinhalb Stunden *post interventionem* zu früh gewählt war. Ideal, aber wegen der Invasivität und des Aufwandes nicht umsetzbar, wären serielle Muskelbiopsien zu verschiedenen Zeitpunkten (null, zweieinhalb und sechs Stunden nach Intervention), um die zeitliche Reihenfolge der Veränderungen im Muskel zeigen zu können.

Die Limitation dieser Pilotstudie liegt in der eher geringen Zahl der Probanden, die zum Teil durch das komplexe Rekrutierungsverfahren mit begrenzten Rekrutierungszeiträumen bedingt war. Wie bereits in den vorherigen Abschnitten besprochen, sind viele Effekte wie z.B. der erhöhte ΔRQ nach der SAFA-Intervention und eine verminderte EGP-Suppression in der Leber zwar tendenziell vorhanden, jedoch ohne statistische Signifikanz. Grundsätzlich wäre es zudem interessant gewesen, auch Probanden mit nachgewiesener IR als weiteres Probandenkollektiv zu untersuchen.

5.5 Ausblick in zukünftige Forschungsfelder und Bedeutung für die Klinik

Es ist seit längerem bekannt, dass FS die Entstehung einer IR begünstigen können. Unsere Studie zeigte, dass es auch nach oraler Aufnahme Unterschiede in Bezug auf den Sättigungsgrad der FS zu geben scheint. Zwar begünstigt auch PUFA die IR, jedoch in geringerem Masse wie SAFA. Sollte sich dieser Sachverhalt in weiteren, größeren

multizentrischen Studien mit oral aufgenommenen FS bestätigen, könnten diese Erkenntnisse wichtige Hilfestellung für Ernährungsberatungen bzw. auch weltweite Ernährungsprogramme sein. Vor allem für Menschen, die ein höheres Risikoprofil für die Entstehung eines T2DM aufweisen, wie Patienten mit Adipositas oder Angehörige ersten Grades von Patienten mit T2DM dürfte dies von Bedeutung sein. Wie bereits in der Einleitung dargelegt, sind ungünstiger Weise die Grundvoraussetzungen für eine massive Ausbreitung der IR durch die Lebensgewohnheiten der westlichen Welt gegeben. Insofern spielen Faktoren, die innerhalb dieser Lebensgewohnheiten beeinflussbar sind, eine zentrale Rolle.

6. Schlussfolgerungen

Sowohl oral aufgenommene SAFA als auch PUFA können eine muskuläre IR erzeugen. SAFA erzeugen hierbei eine stärkere IR als PUFA. Die muskuläre Mitochondrienfunktion ist zweieinhalb Stunden nach der Fettaufnahme nicht verändert, was aber mit dem frühen Zeitpunkt der Biopsie in Zusammenhang stehen könnte. Diese Daten erweitern das Wissen um die Mechanismen peripherer IR nach oraler Fettexposition um den Aspekt der differenzierten Fettbelastung.

7. Literatur und Quellenverzeichnis

1. Shanik MH, Xu Y, Skrha J, Dankner R, Zick Y, Roth J. Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse? *Diabetes Care* 2008; 31 Suppl 2:S262-S268.
2. Bonora E, Kiechl S, Willeit J, et al. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study. *Diabetes* 1998; 47:1643-1649.
3. Bonora E, Formentini G, Calcaterra F, et al. HOMA-estimated insulin resistance is an independent predictor of cardiovascular disease in type 2 diabetic subjects: prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabetes Care* 2002; 25:1135-1141.
4. Haffner SM, D'Agostino R, Jr., Mykkanen L, et al. Insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes. Relationship to cardiovascular risk factors: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 1999; 22:562-568.
5. Hills SA, Balkau B, Coppack SW, et al. The EGIR-RISC STUDY (The European group for the study of insulin resistance: relationship between insulin sensitivity and cardiovascular disease risk): I. Methodology and objectives. *Diabetologia* 2004; 47:566-570.
6. Dunaif A. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev* 1997; 18:774-800.
7. Charles MA, Eschwege E, Bennett PH. [Non-insulin-dependent diabetes in populations at risk: the Pima Indians]. *Diabetes Metab* 1997; 23 Suppl 4:6-9.
8. Paolisso G, Scheen A, Lefebvre P. Glucose handling, diabetes and ageing. *Horm Res* 1995; 43:52-57.
9. Ryan AS. Insulin resistance with aging: effects of diet and exercise. *Sports Med* 2000; 30:327-346.
10. Scheen AJ. Diabetes mellitus in the elderly: insulin resistance and/or impaired insulin secretion? *Diabetes Metab* 2005; 31 Spec No 2:5S27-5S34.
11. Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Giugliano D. Advancing age and insulin resistance: new facts about an ancient history. *Eur J Clin Invest* 1999; 29:758-769.
12. Karakelides H, Irving BA, Short KR, O'Brien P, Nair KS. Age, obesity, and sex effects on insulin sensitivity and skeletal muscle mitochondrial function. *Diabetes* 2010; 59:89-97.
13. Ferrannini E, Vichi S, Beck-Nielsen H, Laakso M, Paolisso G, Smith U. Insulin

action and age. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetes* 1996; 45:947-953.

14. Vaag A, Lehtovirta M, Thye-Ronn P, Groop L. Metabolic impact of a family history of Type 2 diabetes. Results from a European multicentre study (EGIR). *Diabet Med* 2001; 18:533-540.
15. Schulz LO, Bennett PH, Ravussin E, et al. Effects of traditional and western environments on prevalence of type 2 diabetes in Pima Indians in Mexico and the U.S. *Diabetes Care* 2006; 29:1866-1871.
16. Esparza-Romero J, Valencia ME, Martinez ME, Ravussin E, Schulz LO, Bennett PH. Differences in insulin resistance in Mexican and U.S. Pima Indians with normal glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95:E358-E362.
17. Löffler GPPEHPC. *Biochemie und Pathobiochemie*. 8. Auflage ed: Springer Medizin Verlag, 2007.
18. 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. *Diabetes* 1999; 48:1270-1274.
19. Esparza J, Fox C, Harper IT, et al. Daily energy expenditure in Mexican and USA Pima indians: low physical activity as a possible cause of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24:55-59.
20. Hawley JA, Lessard SJ. Exercise training-induced improvements in insulin action. *Acta Physiol (Oxf)* 2008; 192:127-135.
21. Szendroedi J, Phielix E, Roden M. Assessment of Insulin sensitivity. In: Byrne CD, Wild SH eds. *The Metabolic Syndrome*. 2nd ed: Wiley-Blackwell, 2011; 88-105.
22. Phillips DI, Barker DJ, Hales CN, Hirst S, Osmond C. Thinness at birth and insulin resistance in adult life. *Diabetologia* 1994; 37:150-154.
23. Hattersley AT, Tooke JE. The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet* 1999; 353:1789-1792.
24. Herold G. *Herold, Innere Medizin*. 7 ed. Köln, 2013.
25. Kerner W., Brückel J. *Praxisempfehlungen der Deutschen Diabetes Gesellschaft; Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. Diabetologie und Stoffwechsel* 2013:104-107.
26. Berger M. *Diabetes Mellitus*. 2 ed: Berger, M., Urban & Fischer Verlag, München Jena, 2000.
27. Heidemann C, Du Y, Schubert I, Rathmann W, Scheidt-Nave C. Prävalenz und

zeitliche Entwicklung des bekannten Diabetes mellitus Ergebnisse der Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1). Bundesgesundheitsblatt 2013 2013:668-677.

28. Robert Koch-Institut 2009. DEGS: Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland. Projektbeschreibung. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. RKI, Berlin. 2009.
29. Seshasai SR, Kaptoge S, Thompson A, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med* 2011; 364:829-841.
30. Koster I, Schubert I, Huppertz E. [Follow up of the CoDiM-Study: Cost of diabetes mellitus 2000-2009]. *Dtsch Med Wochenschr* 2012; 137:1013-1016.
31. Behrends JC, Bischofberger J, Deutzmann R, et al. *Duale Reihe, Physiologie*. 2 ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2012.
32. Häring HU, Gallwitz B, Müller-Wieland D, Usadel KH, Mehnert H, et al. *Diabetologie in Klinik und Praxis*. 6 ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG, 2011.
33. Kahn SE. Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:4047-4058.
34. Groop LC, Bonadonna RC, DelPrato S, et al. Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest* 1989; 84:205-213.
35. Ryder JW, Yang J, Galuska D, et al. Use of a novel impermeable biotinylated photolabeling reagent to assess insulin- and hypoxia-stimulated cell surface GLUT4 content in skeletal muscle from type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2000; 49:647-654.
36. Zierath JR, He L, Guma A, Odegaard WE, Klip A, Wallberg-Henriksson H. Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996; 39:1180-1189.
37. Damsbo P, Vaag A, Hother-Nielsen O, Beck-Nielsen H. Reduced glycogen synthase activity in skeletal muscle from obese patients with and without type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1991; 34:239-245.
38. Storgaard H, Song XM, Jensen CB, et al. Insulin signal transduction in skeletal muscle from glucose-intolerant relatives of type 2 diabetic patients [corrected]. *Diabetes* 2001; 50:2770-2778.
39. Roden M. Non-invasive studies of glycogen metabolism in human skeletal muscle using nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2001; 4:261-266.

40. Cline GW, Petersen KF, Krssak M, et al. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 1999; 341:240-246.
41. Roden M. How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle. *News Physiol Sci* 2004; 19:92-96.
42. Roden M, Price TB, Perseghin G, et al. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 1996; 97:2859-2865.
43. Krssak M, Roden M. The role of lipid accumulation in liver and muscle for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in humans. *Rev Endocr Metab Disord* 2004; 5:127-134.
44. Roden M, Bernroider E. Hepatic glucose metabolism in humans--its role in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17:365-383.
45. Defronzo RA, Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009; 32 Suppl 2:S157-S163.
46. Thiebaud D, Jacot E, Defronzo RA, Maeder E, Jequier E, Felber JP. The effect of graded doses of insulin on total glucose uptake, glucose oxidation, and glucose storage in man. *Diabetes* 1982; 31:957-963.
47. Müller-Wieland D, Petermann A, Nauck M, et al. Praxisempfehlungen der Deutschen Diabetes Gesellschaft; Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Diabetologie* 2016; 11 (Suppl 2): S78–S81
48. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985; 28:412-419.
49. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 2004; 27:1487-1495.
50. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85:2402-2410.
51. Ferrannini E, Mari A. How to measure insulin sensitivity. *J Hypertens* 1998; 16:895-906.
52. Pacini G, Mari A. Assessment of Insulin Sensitivity from Steady-State and Dynamic Tests. In: Roden M ed. *Clinical Diabetes Research: Wiley,J., 2007; 27-37.*
53. Matsuda M, Defronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999; 22:1462-1470.

54. Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, et al. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000; 23:295-301.
55. Mari A, Pacini G, Murphy E, Ludvik B, Nolan JJ. A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 2001; 24:539-548.
56. Pacini G, Mari A. Methods for clinical assessment of insulin sensitivity and beta-cell function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2003; 17:305-322.
57. Mari A, Pacini G, Brazzale AR, Ahren B. Comparative evaluation of simple insulin sensitivity methods based on the oral glucose tolerance test. *Diabetologia* 2005; 48:748-751.
58. Bergman RN, Finegood DT, Ader M. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocr Rev* 1985; 6:45-86.
59. DeFronzo RA, Ferrannini E, Hendler R, Wahren J, Felig P. Influence of hyperinsulinemia, hyperglycemia, and the route of glucose administration on splanchnic glucose exchange. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; 75:5173-5177.
60. Roden M, Behm A. Glucose Clamp Techniques. In: Roden M ed. *Clinical Diabetes Research*: Wiley, J., 2007; 44-76.
61. Reaven GM, Hollenbeck C, Jeng CY, Wu MS, Chen YD. Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate, and insulin for 24 h in patients with NIDDM. *Diabetes* 1988; 37:1020-1024.
62. Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rossetti L. Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest* 1994; 93:2438-2446.
63. Belfort R, Mandarino L, Kashyap S, et al. Dose-response effect of elevated plasma free fatty acid on insulin signaling. *Diabetes* 2005; 54:1640-1648.
64. Roden M, Krssak M, Stingl H, et al. Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by free fatty acids in humans. *Diabetes* 1999; 48:358-364.
65. Beysen C, Karpe F, Fielding BA, Clark A, Levy JC, Frayn KN. Interaction between specific fatty acids, GLP-1 and insulin secretion in humans. *Diabetologia* 2002; 45:1533-1541.
66. Lotta LA, Gulati P, Day FR, et al. Integrative genomic analysis implicates limited peripheral adipose storage capacity in the pathogenesis of human insulin resistance. *Nat Genet* 2017 Jan;49(1):17-26
67. Medzhitov R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature* 2007; 449:819-826.

68. Kim JJ, Sears DD. TLR4 and Insulin Resistance. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010.
69. Nowotny B, Zahiragic L, Krog D, et al. Mechanisms underlying the onset of oral lipid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes* 2013; 62:2240-2248.
70. Bikman BT, Summers SA. Ceramides as modulators of cellular and whole-body metabolism. *J Clin Invest* 2011; 121:4222-4230.
71. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 2006; 116:3015-3025.
72. Davis JE, Gabler NK, Walker-Daniels J, Spurlock ME. Tlr-4 deficiency selectively protects against obesity induced by diets high in saturated fat. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16:1248-1255.
73. Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, et al. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects. *Diabetes* 2008; 57:2595-2602.
74. 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. *Diabetes* 2002; 51:2005-2011.
75. 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. *J Biol Chem* 2002; 277:50230-50236.
76. Li Y, Soos TJ, Li X, et al. Protein kinase C Theta inhibits insulin signaling by phosphorylating IRS1 at Ser(1101). *J Biol Chem* 2004; 279:45304-45307.
77. Mihalik SJ, Goodpaster BH, Kelley DE, et al. Increased levels of plasma acylcarnitines in obesity and type 2 diabetes and identification of a marker of glucolipotoxicity. *Obesity (Silver Spring)* 2010; 18:1695-1700.
78. Soeters MR, Sauerwein HP, Duran M, et al. Muscle acylcarnitines during short-term fasting in lean healthy men. *Clin Sci (Lond)* 2009; 116:585-592.
79. Koliaki C, Roden M. Do mitochondria care about insulin resistance? *Mol Metab* 2014; 3:351-353.
80. Sparks LM, Xie H, Koza RA, et al. A high-fat diet coordinately downregulates genes required for mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle. *Diabetes* 2005; 54:1926-1933.
81. Brehm A, Krssak M, Schmid AI, Nowotny P, Waldhausl W, Roden M. Acute elevation of plasma lipids does not affect ATP synthesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299:E33-E38.

82. Koves TR, Ussher JR, Noland RC, et al. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab* 2008; 7:45-56.
83. Kelley DE, Goodpaster B, Wing RR, Simoneau JA. Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity, and weight loss. *Am J Physiol* 1999; 277:E1130-E1141.
84. Hulver MW, Berggren JR, Cortright RN, et al. Skeletal muscle lipid metabolism with obesity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284:E741-E747.
85. Abdul-Ghani MA, Defronzo RA. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010:476279.
86. Szendroedi J, Yoshimura T, Phielix E, et al. Role of diacylglycerol activation of PKC θ in lipid-induced muscle insulin resistance in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111:9597-9602.
87. Ritter O, Jelenik T, Roden M. Lipid-mediated muscle insulin resistance: different fat, different pathways? *J Mol Med (Berl)* 2015; 93:831-843.
88. Boden G, Jadali F, White J, et al. Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men. *J Clin Invest* 1991; 88:960-966.
89. Morris S, Simmer K, Gibson R. Characterization of fatty acid clearance in premature neonates during intralipid infusion. *Pediatr Res* 1998; 43:245-249.
90. Meisel JA, Le HD, de Meijer VE, et al. Comparison of 5 intravenous lipid emulsions and their effects on hepatic steatosis in a murine model. *J Pediatr Surg* 2011; 46:666-673.
91. Boden G, Chen X, Rosner J, Barton M. Effects of a 48-h fat infusion on insulin secretion and glucose utilization. *Diabetes* 1995; 44:1239-1242.
92. Brubaker PL, Anini Y. Direct and indirect mechanisms regulating secretion of glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-2. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81:1005-1012.
93. Samuel VT, Shulman GI. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. *Cell* 2012; 148:852-871.
94. Brons C, Jensen CB, Storgaard H, et al. Impact of short-term high-fat feeding on glucose and insulin metabolism in young healthy men. *J Physiol* 2009; 587:2387-2397.
95. Galgani JE, Uauy RD, Aguirre CA, Diaz EO. Effect of the dietary fat quality on insulin sensitivity. *Br J Nutr* 2008; 100:471-479.
96. 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. *Am J Clin Nutr* 2011; 93:494-499.

97. Hernandez EA, Kahl S, Seelig A, et al. Acute dietary fat intake initiates alterations in energy metabolism and insulin resistance. *J Clin Invest* 2017; 127:695-708.
98. Lopez S, Bermudez B, Pacheco YM, Villar J, Abia R, Muriana FJ. Distinctive postprandial modulation of beta cell function and insulin sensitivity by dietary fats: monounsaturated compared with saturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 2008; 88:638-644.
99. Kien CL, Bunn JY, Poynter ME, et al. A lipidomics analysis of the relationship between dietary fatty acid composition and insulin sensitivity in young adults. *Diabetes* 2013; 62:1054-1063.
100. Clore JN, Stillman JS, Li J, O'Keefe SJ, Levy JR. Differential effect of saturated and polyunsaturated fatty acids on hepatic glucose metabolism in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004; 287:E358-E365.
101. 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. *Diabetologia* 2006; 49:1371-1379.
102. Tierney AC, McMonagle J, Shaw DI, et al. Effects of dietary fat modification on insulin sensitivity and on other risk factors of the metabolic syndrome--LIPGENE: a European randomized dietary intervention study. *Int J Obes (Lond)* 2011; 35:800-809.
103. Summers LK, Fielding BA, Bradshaw HA, et al. Substituting dietary saturated fat with polyunsaturated fat changes abdominal fat distribution and improves insulin sensitivity. *Diabetologia* 2002; 45:369-377.
104. Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WS, Khouri S, Kraegen EW. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes* 1991; 40:280-289.
105. Frangioudakis G, Ye JM, Cooney GJ. Both saturated and n-6 polyunsaturated fat diets reduce phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and protein kinase B in muscle during the initial stages of in vivo insulin stimulation. *Endocrinology* 2005; 146:5596-5603.
106. Lee JS, Pinnamaneni SK, Eo SJ, et al. Saturated, but not n-6 polyunsaturated, fatty acids induce insulin resistance: role of intramuscular accumulation of lipid metabolites. *J Appl Physiol (1985)* 2006; 100:1467-1474.
107. Marotta M, Ferrer-Martnez A, Parnau J, Turini M, Mace K, Gomez Foix AM. Fiber type- and fatty acid composition-dependent effects of high-fat diets on rat muscle triacylglyceride and fatty acid transporter protein-1 content.

Metabolism 2004; 53:1032-1036.

108. Szendroedi J, Kaul K, Kloock L, et al. Lower fasting muscle mitochondrial activity relates to hepatic steatosis in humans. *Diabetes Care* 2014; 37:468-474.
109. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010; 33 Suppl 1:S.62-S.69.
110. Sillanpaa E, Cheng S, Hakkinen K, et al. Body composition in 18- to 88-year-old adults--comparison of multifrequency bioimpedance and dual-energy X-ray absorptiometry. *Obesity (Silver Spring)* 2014; 22:101-109.
111. Krebs M, Stingl H, Nowotny P, et al. Prevention of in vitro lipolysis by tetrahydrolipstatin. *Clin Chem* 2000; 46:950-954.
112. Phielix E, Meex R, Moonen-Kornips E, Hesselink MK, Schrauwen P. Exercise training increases mitochondrial content and ex vivo mitochondrial function similarly in patients with type 2 diabetes and in control individuals. *Diabetologia* 2010; 53:1714-1721.
113. WEIR JB. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J Physiol* 1949; 109:1-9.
114. Schadowaldt P, Nowotny B, Strassburger K, Kotzka J, Roden M. Indirect calorimetry in humans: a postcalorimetric evaluation procedure for correction of metabolic monitor variability. *Am J Clin Nutr* 2013; 97:763-773.
115. Guess N, Perreault L, Kerege A, Strauss A, Bergman BC. Dietary Fatty Acids Differentially Associate with Fasting Versus 2-Hour Glucose Homeostasis: Implications for The Management of Subtypes of Prediabetes. *PLoS One* 2016; 11:e0150148.
116. Giacco R, Clemente G, Busiello L, et al. Insulin sensitivity is increased and fat oxidation after a high-fat meal is reduced in normal-weight healthy men with strong familial predisposition to overweight. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28:342-348.
117. Stern SE, Williams K, Ferrannini E, DeFronzo RA, Bogardus C, Stern MP. Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. *Diabetes* 2005; 54:333-339.
118. Hodson L, McQuaid SE, Karpe F, Frayn KN, Fielding BA. Differences in partitioning of meal fatty acids into blood lipid fractions: a comparison of linoleate, oleate, and palmitate. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296:E64-E71.
119. Burdge GC, Jones AE, Wootton SA. Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids are the principal products of alpha-linolenic acid metabolism in young men*. *Br J Nutr* 2002; 88:355-363.

120. Nogiec C, Burkart A, Dreyfuss JM, Lerin C, Kasif S, Patti ME. Metabolic modeling of muscle metabolism identifies key reactions linked to insulin resistance phenotypes. *Mol Metab* 2015; 4:151-163.
121. Morino K, Petersen KF, Dufour S, et al. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents. *J Clin Invest* 2005; 115:3587-3593.
122. Szendroedi J, Phielix E, Roden M. The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 8:92-103.

8. Anhang

1. Vorabfragebogen Screening

Name: _____	Regelmäßige Medikamenteneinnahme:
Vorname: _____	Ja: <input type="radio"/> Nein: <input type="radio"/>
Geburtsdatum: _____	Medikamentenname & Dosierung
Geschlecht: Männlich: <input type="radio"/> Weiblich: <input type="radio"/>	_____
Anschrift: _____	_____
_____	_____
Tel. privat: _____	Wird regelmäßig Sport getrieben?
Tel. mobil: _____	_____
Fax: _____	Interesse an welcher Studie?
Email: _____	_____
Hausarzt: _____	Screeningtermin vereinbart?
_____	_____
Größe: _____ cm	Wie ist der Proband auf uns aufmerksam georden?
Gewicht: _____ kg	_____
BMI: _____ kg/m ²	_____
Normalgewicht <input type="radio"/> Übergewicht <input type="radio"/>	Sonstiges:
(BMI 19-25 kg/m ²) (BMI > 25 kg/m ²)	_____
Diabetiker? Nein <input type="radio"/> Ja, Typ 1 <input type="radio"/> Ja, Typ 2 <input type="radio"/>	_____
Datum Diabetesdiagnose: _____	_____
Diabetesmedikation: _____	_____
_____	_____
Folgeerkrankungen durch den Diabetes:	Gespräch in Screeningdatenbank eingetragen?
_____	Datum: _____
_____	Mitarbeiter: _____
Diabeteserkrankungen in der Familienanamnese:	
(Eltern, Geschwister, Großeltern, Kinder)	

Aktuelles HbA1c: _____	

2. Blutentnahmeschema des Versuchstages

Vorname, Nachname des Probanden:

Untersuchungsdatum:

Minuten	BZ 0.5 ml	Glukose isotope (F-EDTA), 1,3ml	Insulin/Cortisol/C- Peptid (EDTA), 2ml	Glukagon (Heq/Aprotinin), 2ml	FFA/TG/Glycerol (Na-EDTA/Orlistat), 2 ml	FFA spectrum (Na-EDTA/Orlistat), 5ml	VLDL (Serum), 2ml	Chylomikronen (Serum), 9ml	Inkretine (K2 EDTA) 2,5 ml	Cytochrom (Serum), 4ml	Extra Serum, 4 ml
0	X	1	1	1	1	1			1	1	1
100	X	2									
110	X	3									
120	X	4									
180	X		2	2	2				2		2
240	X		3	3	3				3	2	3
300	X		4	4	4	2			4		4
360	X		5	5	5				5	3	5
420	X		6	6	6				6		6
460	X	5									
470	X	6									
480	X	7	7	7	7	3			7	4	7
485											
540	X		8	8	8				8		8
580	X	8	9								
590	X	9	10								
600	X	10	11	9	9				9	5	9
630											
660	X		12	10	10				10		10
700	X	11	13								
710	X	12	14								
720	X	13	15	11	11				11	6	11

3. Checkliste Versuchstag

Intervention:

Studie Code: FLAME-M

Untersuchungsdatum: _____

Proband-Nr: _____

Studienvorgänge pro Zeitpunkt	CODE: 1=Ja; 2=Nein	Untersucher- nummer
-30 bis -15 Min		
Vorbereitung der D2-NACL Infusionslösung		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aus 1000 ml NaCl Lösung 0.9%, 20 ml mit einer Spritze entnehmen ▪ 20 ml (=4g) D2-Glukose von Profil (2 Vials) mit einer Spritze aufziehen und zu 980 ml NaCl Lösung zugeben (Infusat 1000 ml mit D2-Glukose Konzentration 4 mg/ml) ▪ Die Lösung gut mischen und beschriften (980 ml NaCl + 4g D2-Glukose, Datum, Kürzel des Namens des Probanden) ▪ Das Infusomatbesteck anschließen, das System befüllen und entlüften ▪ 1 ml Infusatprobe (D2-Glu) aus dem Ende des Infusionsschlauches in vorbereitetem Röhrchen tropfen lassen 	_	_ _ _
-15 bis 0 Min		
Vorbereitung des Probanden		
Unterschriebene Einverständniserklärung vorhanden?	_	_ _ _
IPAQ Fragebogen (Langversion) für körperliche Aktivität ausgefüllt und abgegeben?	_	_ _ _
Überprüfung der Ein/Ausschlusskriterien vor dem Untersuchungsbeginn?	_	_ _ _
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Proband nüchtern (nur mit Wasser) für mindestens 10 Stunden? 	_	Wenn 2, ankreuzen <input type="checkbox"/>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fettarme Ernährung am Vorabend? 	_	Wenn 2, ankreuzen <input type="checkbox"/>
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Alkoholische Getränke am Vorabend? 	_	Wenn 1, ankreuzen <input type="checkbox"/>

▪ Kohlenhydratreiche Ernährung in den letzten 3 Tagen?	<input type="checkbox"/>	Wenn 2, ankreuzen <input type="checkbox"/>
▪ Intensive sportliche Betätigung in den letzten 3 Tagen?	<input type="checkbox"/>	Wenn 1, ankreuzen <input type="checkbox"/>
▪ Einnahme von gerinnungshemmenden Medikamenten (z.B. Aspirin) in den letzten 10 Tagen?	<input type="checkbox"/>	Wenn 1, ankreuzen <input type="checkbox"/>
▪ Hb (von Screeningsuntersuchungen) <11 g/dl?	<input type="checkbox"/>	Wenn 1, ankreuzen <input type="checkbox"/>
▪ Bei Frauen, erster Tag der letzten Regelblutung:	____/____/____	
☛ Falls ein rotes Kästchen angekreuzt wurde, ist der Veruchsbeginn nur nach Rücksprache mit dem Studienarzt möglich!!!		
Versuch durchführbar?	<input type="checkbox"/>	
Versuchsfreigabe durch: _____	(Name des Arztes)	
Aktuelles Körpergewicht (Kg)	____,____	____
Aktuelle Größe (cm)	____	____
Berechnung BMI (Kg/m ²)	____,____	____
Berechnung BSA (=Body Surface Area) (m ²)	____,____	____
Venenverweilkanüle rechts und links gelegt?	<input type="checkbox"/>	____
0 Min		
Blutabnahme 1 (36.8 ml) und Durchspülung mit Kochsalz (BZ, D2-GLU, Ins/Cort/C-pept, Glukagon, FFA/GLY/TG, FFA Spektrum, Chylomikronen, Inkr, CYT, Extra Serum, PaxGene, Potassium)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	____
Blutzucker (mg/dl)	____,____	
Gerätenummer EKF	____	
5 Min		
Start D2-Glukose Infusion		
Bolus für 10 Min		
Infusionsrate (ml/h) = 0.06 x KG (kg) x Nü-BZ (mg/dl) = _____		

Start D2-Glukose Infusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Start die Uhr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
15 Min		
Kontinuierliche Infusion bis Ende des Clamps		
Infusionsrate (ml/h) = 0.54 x KG (kg) = _____		
Umstellen die D2-Glukose Infusionsrate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
30 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahme 1		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
50-60 Min		
Lokale Betäubung für Muskelbiopsie 1 (Dauer ca. 10 Min)		
Lokale Betäubung mit Xylokain (2-3 Spritzen 5 ml) erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Welche Seite?	<input type="checkbox"/> rechts <input type="checkbox"/> links	
60-90 Min		
Muskelbiopsie 1 (Dauer ca. 30 Min)		
Muskelbiopsie problemlos erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Dauer der Biopsie?	_____ Min	
Seite des Oberschenkels	<input type="checkbox"/> rechts <input type="checkbox"/> links	
Versorgung der Entnahmestelle (Steri-strips, Kompresse, Druckverband)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Bemerkungen: _____ _____ _____		
90-120 Min		
Indirekte Kalorimetrie baseline (Dauer 30 Min)		

Messung erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bemerkungen:		
<hr/>		
90 Min		
Blutzuckermessung und Durchspülung		
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
100 Min		
Blutabnahme 2 (1.8 ml) (BZ, D2-GLU) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
110 Min		
Blutabnahme 3 (1.8 ml) (BZ, D2-GLU) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
120 Min		
Wenn nicht, aktuelle Zeit: _____		
Blutabnahme 4 (1.8 ml) (BZ, D2-GLU) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
125 Min		
Orale Aufnahme der Testmahlzeit (184 g)		
Erfolgt problemlos innerhalb von 15 Min?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Proband trinkt auch Wasser?	<input type="checkbox"/>	_____ ml

Bemerkungen/Vorkommnisse:		
<hr/>		
<hr/>		
<hr/>		
180 Min		
Blutabnahme 5 (20 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, Extra Serum)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
190 Min		
Messung des Blutdrucks und der Herzfrequenz*		
Systolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diastolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/>	
Puls (pro Minute)	<input type="text"/>	
*Falls schwere Übelkeit auftritt, kontinuierliche Überwachung mit Monitoring (Blutdruck, Herzfrequenz, SaO2, EKG)		
210 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahmen 2-5		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
220-240 Min		
Lokale Betäubung für Muskelbiopsie 2 (Dauer ca. 10 Min)		
Lokale Betäubung mit Xylokain (2-3 Spritzen 5 ml) erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Welche Seite?	<input type="checkbox"/> rechts	<input type="checkbox"/> links
240 Min		
Blutabnahme 6 (26 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, Glukagon, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, CYT, Extra Serum)		

Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
240-270 Min		
Muskelbiopsie 2 (Dauer ca. 30 Min)		
Muskelbiopsie problemlos erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Dauer der Biopsie?	_____ Min	
Seite des Oberschenkels	<input type="checkbox"/> rechts	<input type="checkbox"/> links
Versorgung der Entnahmestelle (Steri-strips, Kompresse, Druckverband)?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bemerkungen: _____ _____ _____		
270 Min		
Blutabnahme 7 (5 ml) für FFA Spektrum und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
280 Min		
Messung des Blutdrucks und der Herzfrequenz*		
Systolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Diastolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
Puls (pro Minute)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
*Falls schwere Übelkeit auftritt, kontinuierliche Überwachung mit Monitoring (Blutdruck, Herzfrequenz, SaO2, EKG)		
300 Min		
Blutabnahme 8 (22.5 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, Extra Serum, PaxGene)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

315 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahmen 7, 8		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
330 Min		
Blutabnahme 2 ml für Insulin Infusionslösung und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
330-360 Min		
Vorbereitung der Infusionslösungen für den Clamp (INSULIN und HOT-GINF)		
→ INSULIN		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ 46,75 ml NaCl Lösung 0.9% in Perfusorspritze aufziehen ▪ 50 U Insulin = 1,25 ml (Insuman Rapid 40 U/ml) aufziehen und in Perfusorspritze überführen (Insulinkonzentration 1 U/ml) ▪ 2 ml Probandenblut in Perfusorspritze zugeben ▪ Die Lösung gut mischen und beschriften (46,75 ml NaCl + 1,25 ml Insulin + 2 ml Blut, Datum, Kürzel des Namens des Probanden) ▪ 1 ml Infusatprobe (InsInf) aus der Perfusorspritze in vorbereitetem Röhrchen tropfen lassen ▪ Die Perfusorspritze im Kühlschrank aufbewahren bis 15.00 Uhr (Clamp) 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
→ HOT Glukose Infusion (HOT-GINF)		
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Aus 500 ml Glukose Lösung 20%, 10 ml mit einer Spritze entnehmen ▪ 10 ml (=2g) D2-Glukose von Profil zu 490 ml Glukose 20% zugeben (D2-Glukose Anreicherung 2%) ▪ Die Lösung gut mischen und beschriften (490 ml GLU20% + 10 ml D2-GLU, Datum, Kürzel des Namens des Probanden) ▪ Das Infusomatbesteck anschließen, das System befüllen und entlüften ▪ 1 ml Infusatprobe (HOT-GINF) aus dem Ende des Infusionsschlauches in vorbereitetem Röhrchen tropfen lassen 	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

360 Min		
Blutabnahme 9 (26 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, Glukagon, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, CYT, Extra Serum)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
370 Min		
Messung des Blutdrucks und der Herzfrequenz*		
Systolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diastolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/>	
Puls (pro Minute)	<input type="text"/>	
*Falls schwere Übelkeit auftritt, kontinuierliche Überwachung mit Monitoring (Blutdruck, Herzfrequenz, SaO2, EKG)		
420 Min		
Blutabnahme 10 (20 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, Extra Serum)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
450 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahmen 9, 10		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
450-480 Min		
Indirekte Kalorimetrie nach Intervention (Dauer 30 Min)		
Messung erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bemerkungen: _____ _____ _____		

460 Min		
Blutabnahme 11 (1.8 ml) (BZ, D2-GLU) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
470 Min		
Blutabnahme 12 (1.8 ml) (BZ, D2-GLU) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
470 Min		
Vorbereitung für den Beginn des Clamps		
Die Perfusorspritze mit Insulin aus dem Kühlschrank entnehmen, das Perfusorbesteck anschließen, das System befüllen, ca. 5 ml der Lösung durchlaufen lassen und verwerfen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Einen 3-Weg Hahn vorbereiten und mit Kochsalz durchspülen für den Anschluß der Clamp Infusionen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
480 Min		
Blutabnahme 13 (34.8 ml) und Durchspülung (BZ, D2-GLU, Ins/Cort/C-pept, Glukagon, FFA/GLY/TG, FFA Spektrum, Chylomikronen, Inkr, CYT, Extra Serum, PaxGene)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
485 Min		
Start Clamp (high-insulin phase)		
Start Insulin Infusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
→ INSULIN		
Bolus for 8 min = [BSA (m²) x 80 (mU/m²/min) x 60 (min)] / 1000 =		
<hr/>		

Start HOT-GINF Infusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
→ HOT-GINF		
Infusionsrate (ml/h) = _____ (von Blutzuckerwerten abhängig)		
Blutzuckermessungen je 5 Minuten Dokumentation im Clamp Protokoll	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
490 Min		
Kontinuierliche Infusion für High Insulin		
Infusionsrate (ml/h) = [BSA (m²) x 40 (mU/m²/min) x 60 (min)] / 1000 = _____		
Umstellen die Insulin Infusionsrate	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
510 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahmen 11-13		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
510 Min		
Blutabnahme 14 (4,5 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, Potassium)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
540 Min		
Blutabnahme 15 (22 ml) und Durchspülung (BZ, Ins/Cort/C-pept, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, Extra Serum)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
550 Min		
Messung des Blutdrucks und der Herzfrequenz*		

Systolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Diastolischer Blutdruck (mm Hg)	<input type="text"/>	
Puls (pro Minute)	<input type="text"/>	
*Falls schwere Übelkeit auftritt, kontinuierliche Überwachung mit Monitoring (Blutdruck, Herzfrequenz, SaO2, EKG)		
570 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahmen 14 , 15		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="text"/>	<input type="text"/>
570-600 Min		
Indirekte Kalorimetrie während Clamps (Dauer 30 Min)		
Messung erfolgt?	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Bemerkungen: _____ _____ _____		
580 Min		
Blutabnahme 16 (3.8 ml) (BZ, D2-GLU, INS) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="text"/>	<input type="text"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
590 Min		
Blutabnahme 17 (3.8 ml) (BZ, D2-GLU, INS) und Durchspülung		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="text"/>	<input type="text"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="text"/>	<input type="text"/>
600 Min		
Blutabnahme 18 (29.8 ml) und Durchspülung (BZ, D2-GLU, Ins/Cort/C-pept,		

Glukagon, FFA/GLY/TG, Chylomikronen, Inkr, CYT, Extra Serum, PaxGene)		
Blutabnahme erfolgt?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
BZ Mittelwert (mg/dl)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
605 Min		
Zentrifugieren und Versorgung Blutabnahmen 16-18		
Zentrifugieren für 15 Min auf 5° C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Versorgung in vorbereiteten tubes und im Kühlschrank aufbewahren	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Ende Clamp		
Stop Insulin Infusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Stop D2-Glukose Infusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
HOT-GINF Infusion auf doppelter Rate nachlaufen lassen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Essen/Nachbeobachtung		
15 Min nach Essen Blutzucker messen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wenn BZ befriedigend hoch, halbieren HOT-GINF Infusionsrate und noch einmal BZ messen. Wenn BZ befriedigend hoch, stop HOT-GINF Infusion	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bemerkungen/Vorkommnisse: _____ _____ _____		

9. Danksagung

„Inwendig lernt kein Mensch sein Innerstes erkennen. Denn er misst nach eigenem Maß sich bald zu klein und leider oft zu groß. Der Mensch erkennt sich nur im Menschen, nur das Leben lehret jeden was er sei.“(Johann Wolfgang von Goethe, Torquato Tasso, 1807. 2. Akt, 3. Szene, Antonio zu Tasso)

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt und motiviert haben.

Meinem Doktorvater Herrn Univ. Prof. Dr. med. univ. Michael Roden danke ich sehr für die wunderbare Chance unter seiner Betreuung am deutschen Diabetes-Zentrum in Düsseldorf promovieren zu dürfen sowie für seine Geduld, die Unterstützung und seinen wertvollen fachlichen Rat.

Besonders möchte ich mich bei meinen Co-Betreuerinnen Frau Dr. Chrysi Koliaki und Maria Apostolopoulou bedanken, die mich über den gesamten Zeitraum der Promotion begleitet haben und immer, später sogar aus dem Ausland, für Fragen und Anregungen zur Verfügung standen und mich mit größter fachlicher Kompetenz stets unterstützt haben.

Weiterhin möchte ich mich für die freundliche und produktive Integration in die Forschungsgruppe Energiestoffwechsel des DDZ bedanken. Besonders Studienkoordinator Kai Tinnes sowie Studienärztin Frau Sofia Gancheva haben mir immer zur Seite gestanden und mir wertvolle Ratschläge gegeben.

Ein besonderer Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern, meinen Geschwistern, meinem Mann und meiner kleinen Tochter für deren Rückhalt, Motivation und Unterstützung. Meiner Mutter danke ich besonders für die vielen lehrreichen Hinweise und meinem Mann Florian für seine liebevolle Geduld, sein Verständnis und seinen fachlichen Rat.

Ein abschließender Dank gilt meinen Freunden für die zahlreichen Aufmunterungen und die vielfältige Motivation während meiner gesamten Promotionszeit.