

Aus dem Institut für Biochemie und Molekularbiologie II: Molekulare
Zellbiologie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Direktorin Frau Prof. Dr. rer. physiol. Dr. h.c. Ulrike Beisiegel

**Veränderung des Fettsäuremusters bei der Entstehung von
diätinduzierter Adipositas und Insulinresistenz im Mausmodell**

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

Raoul Mohr
aus Woluwe-Saint-Lambert, Belgien

Hamburg, 2008

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 12.11.2008

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende:	Prof. Dr. Dr. U. Beisiegel
Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in:	Prof. Dr. F. U. Beil
Prüfungsausschuss, 3. Gutachter/in:	Prof. Dr. G. Santer

1. EINLEITUNG	4
1.1 VORWORT	4
1.2 LIPIDE.....	4
1.2.1 Lipidklassen	4
1.2.2 Triglyceride und Fettgewebe	4
1.2.2.1 Resorption von Lipiden	5
1.2.3 Cholesterin und Cholesterinester	6
1.2.3.1 Transport der Triglyceride und des Cholesterins	6
1.2.4 Fettsäuren	7
1.2.4.1 Nomenklatur und Klassifizierung.....	7
1.2.4.2 Synthesewege	10
1.3 INSULINRESISTENZ UND DAS METABOLISCHE SYNDROM.....	13
1.3.1 Adipositas	13
1.3.2 Insulinresistenz.....	13
1.3.2.1 Definition.....	13
1.3.2.2 Ursachen der Insulinresistenz.....	15
1.3.3 Metabolisches Syndrom	16
1.3.3.1 Definition.....	16
1.3.3.2 Bedeutung und Prävalenz des metabolischen Syndroms.....	18
1.3.4 Folgeerkrankungen des metabolischen Syndroms.....	19
1.3.4.1 Diabetes mellitus.....	19
1.3.4.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen.....	20
1.3.4.3 Hypertonie.....	21
1.4 ZIEL DER ARBEIT.....	22
2. MATERIALIEN UND METHODEN.....	23
2.1 BESTIMMUNG DER GESAMTFETTSÄUREN IM PLASMA.....	23
2.1.1 Materialien	23
2.1.1.1 Geräte und Instrumente	23
2.1.1.2 Verbrauchsmaterialien	24
2.1.1.3 Chemikalien	25
2.1.2 Methoden.....	26
2.1.2.1 Prinzip der Lipidderivatisierung	26
2.1.2.2 Prinzip der Gaschromatographie	26
2.1.2.3 Durchführung	29
2.2 BESTIMMUNG DER GESAMTFETTSÄUREN IN DER LEBER	30
2.2.1 Materialien	30
2.2.1.1 Geräte und Instrumente	30
2.2.1.2 Verbrauchsmaterialien.....	30
2.2.1.3 Chemikalien	31
2.2.2 Methoden.....	31
2.2.2.1 Prinzipien der Homogenisierung von Geweben.....	31
2.2.2.2 Durchführung	31
2.3 BESTIMMUNG DER GESAMTFETTSÄUREN IM MUSKEL	32

2.3.1	Materialien	32
2.3.2	Methoden.....	32
2.4	BESTIMMUNG DER GESAMTFETTSÄUREN IM SUBKUTANEN UND EPIDYDIMALEN FETTGEWEBE.....	33
2.4.1	Materialien	33
2.4.2	<i>Methoden</i>	33
3.	ERGEBNISSE	34
3.1	ALLGEMEINES PROJEKTDESIGN	34
3.1.1	Studiendesign.....	34
3.2	NÄHRUNGSBESTANDTEILE DER DIÄTEN.....	36
3.3	CHARAKTERISIERUNG DER MÄUSE ZUM ZEITPUNKT DER ORGANENTNAHME.....	39
3.4	PLASMAINSULIN- UND PLASMAGLUCOSESPIEGEL DER MÄUSE ZUM ZEITPUNKT DER ORGANENTNAHME	40
3.5	FETTSÄUREBESTIMMUNG	42
3.5.1	Plasma.....	43
3.5.1.1	<i>Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Plasma der Mäuse</i>	43
3.5.1.2	<i>Muster der Omega-3-Fettsäuren (α-Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) im Plasma der Mäuse</i>	44
3.5.1.3	<i>Muster der Omega-6-Fettsäuren (Linol-, γ-Linolen- und Arachidonsäure) im Plasma der Mäuse.....</i>	46
3.5.1.4	<i>Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Plasma der Mäuse.....</i>	47
3.5.2	Lebern.....	48
3.5.2.1	<i>Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Lebergewebe der Mäuse</i>	48
3.5.2.2	<i>Muster der Omega-3-Fettsäuren (α-Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) im Lebergewebe der Mäuse.....</i>	49
3.5.2.3	<i>Muster der Omega-6-Fettsäuren (Linol-, γ-Linolen- und Arachidonsäure) im Lebergewebe der Mäuse</i>	50
3.5.2.4	<i>Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Lebergewebe der Mäuse.....</i>	51
3.5.3	Subkutanes und epidydimales Fettgewebe.....	53
3.5.3.1	<i>Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im subkutanen- und epidydimalen Fettgewebe der Mäuse</i>	53
3.5.3.2	<i>Muster verschiedener Fettsäuren im subkutanen Fettgewebe der Mäuse.....</i>	54
3.5.4	Muskelgewebe.....	55
3.5.4.1	<i>Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Muskelgewebe der Mäuse</i>	55
3.5.4.2	<i>Fettsäuremuster im Muskelgewebe der Mäuse</i>	56
3.5.5	Gesättigte Fettsäuren	57

4.	DISKUSSION	59
4.1	METHODENDISKUSSION DER LIPIDEXTRAKTION UND GASCHROMATOGRAPHISCHEN FETTSÄUREBESTIMMUNG	59
4.2	DIÄTEN ZUR FÜTTERUNG DER MÄUSE	59
4.3	CHARAKTERISIERUNG DER MÄUSE	60
4.4	PLASMA UND LEBERN DER MÄUSE	60
4.4.1	Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Plasma der Mäuse	60
4.4.2	Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren in den Lebern der Mäuse	62
4.4.3	Muster der Omega-3-Fettsäuren (α -Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) in den Lebern und im Plasma der Mäuse	63
4.4.4	Muster der Omega-6-Fettsäuren (Linol-, γ -Linolen- und Arachidonsäure) in den Lebern und im Plasma der Mäuse	65
4.4.5	Muster der Delta-9-Desaturase-Familie in den Lebern und im Plasma der Mäuse	67
4.5	FETTGEWEBE DER MÄUSE	69
4.5.1	Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im subkutanen- und epidydimalen Fettgewebe der Mäuse	69
4.5.2	Muster verschiedener Fettsäuren im subkutanen Fettgewebe der Mäuse	69
4.6	MUSKELGEWEBE DER MÄUSE	71
4.6.1	Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren und Fettsäuremuster im Muskelgewebe der Mäuse	71
4.7	GESÄTTIGTE FETTSÄUREN	71
5.	ZUSAMMENFASSUNG	73
6.	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	74
7.	ANHANG	75
8.	LITERATURVERZEICHNIS	85
9.	DANKSAGUNG	98
10.	CURRICULUM VITAE	99
11.	PUBLIKATION	100
12.	EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG	101

1. Einleitung

1.1 Vorwort

Das Thema dieser Doktorarbeit lautet „Veränderung des Fettsäuremusters bei der Entstehung von diätinduzierter Adipositas und Insulinresistenz im Mausmodell“. Die Insulinresistenz (IR) ist eine Vorstufe für die Erkrankung Diabetes mellitus Typ II. Bei dieser Stoffwechselstörung ist der Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel tiefgreifend gestört. Der Schwerpunkt dieser Doktorarbeit liegt in der Erforschung der Fettsäurezusammensetzung unterschiedlicher Gewebe der Maus bei der diätinduzierten Adipositas und IR. Eine kurze Zusammenfassung der für das Verständnis notwendigen Grundlagen der Chemie und Biochemie ist in den Kapiteln 1.2 bis 1.3 vorzufinden.

1.2 Lipide

1.2.1 Lipidklassen

Die Stoffgruppe der Lipide lässt sich in Triglyceride, Fettsäuren und deren Derivate, Steroide und deren Derivate, Wachse und Terpene, Phospho- und Sphingolipide unterteilen.

Lipide zeichnen sich durch eine schlechte Löslichkeit in Wasser aus. Vielmehr lösen sie sich sehr gut in unpolaren, organischen Lösungsmitteln wie Methanol, Aceton oder Chloroform. Sie sind essentielle organische Verbindungen, die für die Vitalität aller Organismen unabdingbar sind.

1.2.2 Triglyceride und Fettgewebe

Triglyceride dienen in vielen Organismen als Hauptenergiereserve und werden bei Vertebraten überwiegend in den Adipozyten des Fettgewebes gespeichert. Die Triglyceridmoleküle werden durch Veresterung von Glycerin mit Fettsäuren gebildet. Bei Bedarf an Fettsäuren, vor allem durch Herz- und

Skelettmuskulatur, können diese sich in den Adipozyten befindlichen Triglyceride durch Aktivierung der hormonsensitiven Lipase in Form von Fettsäuren mobilisiert werden.

Bei einem gesunden Mann beträgt die Menge an Körperfett 8-15 kg, bei einer gesunden Frau sind es 10-20 kg [9]. Die Triglyceridspeicher können ohne gesundheitliche Schäden bis auf 1 kg reduziert werden. Gleichzeitig kann ein Erwachsener nur ca. 500 g Kohlenhydrate in Form von Glycogen speichern, was auf die Bedeutung des Fettgewebes als langfristiger Energiespeicher hinweist [75]. Triglyceride dienen jedoch nicht nur als Energiespeicher, sondern auch als Bauelement. So stützt zum Beispiel das retrobulbäre Fettgewebe den Augapfel. Die Triglyceride, auch Triacylglyceride genannt, haben einen physikalischen Brennwert von ca. 40 kJ/g. Bei Kohlenhydraten und Proteinen beträgt dieser nur ca. 17-18 kJ/g, der physikalische Brennwert von Ethanol liegt bei ca. 30 kJ/g [75].

1.2.2.1 Resorption von Lipiden

Der Verdau von Nahrungslipiden findet überwiegend im Duodenum und Jejunum statt [9]. Dort werden sie in Fettsäuren, Monoglyceride, Cholin und weitere Bestandteile zerlegt. Im Duodenum werden die Lipide durch Gallensalze emulgiert und durch peristaltische Bewegungen in kleine Tröpfchen zerlegt. Dadurch ist ihre Oberfläche für den Angriff von Lipasen um den Faktor 10.000 vergrößert [9]. Es bilden sich Micellen, welche aus langkettigen Fettsäuren, Monoglyceriden und Gallensalzen bestehen. Spezifische Transporter sind für die Aufnahme der Bestandteile durch die Mucosa verantwortlich. Die Peristaltik des Darms beschleunigt diesen Vorgang. Nach dem Transport der Fettsäuren durch die Mucosa werden Triglyceride, Phospholipide und einige Cholesterylester wieder zu triglyceridreichen Lipoproteinen, den sog. Chylomikronen, zusammengesetzt. Diese werden anschließend über die Lymphbahn und den Ductus thoracicus in das venöse Blut transportiert [9, 75]. Kurzkettige Fettsäuren können auch im unveresterten Zustand über die Portalvene direkt in den Blutkreislauf gelangen.

1.2.3 Cholesterin und Cholesterinester

Cholesterin ist ein wichtiger Bestandteil von Zellmembranen sowie Ausgangssubstanz für die Biosynthese von Steroidhormonen, Gallensäuren und Vitamin D₃. Die tägliche Synthese an Cholesterin im menschlichen Körper beträgt 1,25 g. Es wird vorwiegend in der Leber (85 Prozent) und im Magen-Darm-Trakt (12 Prozent) gebildet. Zusätzlich erfolgt eine exogene Aufnahme von Cholesterin. Unter Beteiligung der Enzyme Acyl-CoA-Cholesterin-Acyl-Transferase (ACAT) und Lecithin-Cholesterin-Acyl-Transferase (LCAT) entsteht aus dem freien Cholesterin das Cholesterinester, welches die lipophile Speicherform des Cholesterins darstellt.

Cholesterin ist ein unabdingbares Molekül, seine Biosynthese ist von der Menge des mit der Nahrung aufgenommenen Cholesterins abhängig. So lässt sich beim Menschen durch Reduktion der Cholesterinaufnahme der Cholesterinspiegel im Plasma senken, auf der anderen Seite aber auch durch Mehraufnahme steigern. Erhöhtes Plasmacholesterin zeigt die Tendenz zur Ablagerung an Wänden von Blutgefäßen, was eine Rolle bei der Entstehung der Atherosklerose spielt (siehe 1.3) [75].

1.2.3.1 *Transport der Triglyceride und des Cholesterins*

Da Lipide überwiegend hydrophobe Eigenschaften haben, werden sie in der Blutlaufbahn überwiegend mittels Transportproteinen, den so genannten Lipoproteinen transportiert. Lipoproteine können nach ihrer Dichte (engl.: density) in vier Hauptklassen eingeteilt werden. So unterscheidet man Chylomikronen, „very low density lipoproteins (VLDL)“, „low density lipoproteins (LDL)“ und „high density lipoproteins (HDL)“ voneinander. Sowohl die Dichte als auch der Proteinanteil der Lipoproteine nimmt in der angegebenen Reihenfolge zu [75]. Die Chylomikronen transportieren die meisten Triglyceride. Den höchsten Cholesteringehalt zeigt die LDL-Fraktion [75].

Die Fähigkeit der Lipoproteine, als Transportmedium in wässriger Lösung zu dienen, hängt mit ihrer spezifischen Struktur zusammen. Der Kern jedes Lipoproteins besteht aus hydrophoben Lipiden wie Triglyceriden und Cholesterinestern, um die sich Membranlipide und Cholesterin gruppieren. Die Apolipoproteine sind wichtig für die Bildung der Lipoproteine und spielen eine bedeutende Rolle bei deren Stoffwechsel. So aktivieren und inhibieren sie Enzyme oder wirken als Liganden von Rezeptoren, die sich in der Leber oder im peripheren Gewebe befinden und für die Aufnahme der Lipoproteine zuständig sind.

Endogene Triglyceride werden mittels der VLDL, welche in der Leber synthetisiert werden, zum Fettgewebe und in alle anderen Gewebe transportiert. Durch die sich in den Geweben befindliche Lipoproteinlipase (in der Leber zusätzlich die hepatische Lipase) werden Fettsäuren aus den Triglyceriden freigesetzt und in die jeweiligen Zellen transportiert. Die Hydrolyse der VLDL führt zunächst zur Bildung der „intermediate density lipoproteins (IDL)“, anschließend entstehen durch weiter fortschreitende Hydrolyse die LDL. Mittels des LDL-Rezeptors werden die LDL-Partikel in fast allen Körperorganen, hauptsächlich jedoch in den extrahepatischen Organen aufgenommen und können dort Cholesterin abgeben. HDL hat eine dem LDL entgegengesetzte Aufgabe [76]. Es wird in der Leber synthetisiert und durch Interaktion mit anderen Lipoproteinen im Plasma komplettiert. Die HDL sind in der Lage, Cholesterin aus Arterienwänden, Geweben und Makrophagen aufzunehmen. Ebenso übernimmt die HDL-Fraktion den Cholesterintransport zur Leber. Dort kann das überschüssige Cholesterin über die Galle ausgeschieden werden.

1.2.4 Fettsäuren

1.2.4.1 Nomenklatur und Klassifizierung

Eine Fettsäure besteht aus einer Kohlenwasserstoffkette mit einer endständigen Carboxylgruppe. Die verschiedenen Fettsäuren haben Trivialnamen, die sich meist aus dem Namen des Organismus ergeben

haben, aus der sie das erste Mal isoliert werden konnten. So wurde zum Beispiel die Palmitinsäure erstmals aus der Ölpalme *Elaeis guineensis* isoliert. Die Kurzbezeichnung benennt zunächst die Anzahl der C-Atome, nach einem Doppelpunkt folgt dann die Anzahl der Doppelbindungen. Durch ω wird festgelegt, an welcher Stelle, ausgehend vom Methylende des Moleküls, sich die erste Doppelbindung befindet. So handelt es sich zum Beispiel bei der Ölsäure (C 18:1(ω 9)) um eine Carbonsäure mit 18 C-Atomen und einer ungesättigten Bindung zwischen dem neunten und zehnten C-Atom, gezählt vom Carboxyl-C-Atom her.

Man kann die Fettsäuren nach ihrer Kettenlänge und nach dem Grad der Sättigung unterscheiden. So werden Fettsäuren in kurzkettige (bis zu 4 C-Atome), mittelkettige (6-10 C-Atome) und langkettige Fettsäuren (über 10 C-Atome) unterschieden [9]. Ebenfalls werden Fettsäuren in gesättigte, einfach ungesättigte und mehrfach ungesättigte Fettsäuren eingeteilt. Gesättigte Fettsäuren sind maximal an Wasserstoffatomen beladen, es liegen keine Doppelbindungen innerhalb der Kohlenwasserstoffkette vor. Ungesättigte Fettsäuren weisen eine oder mehrere Doppelbindungen zwischen den C-Atomen auf. Je kürzer und ungesättigter eine Fettsäure ist, desto niedriger ist ihr Schmelzpunkt. In der nachfolgenden Tabelle 1 ist eine Auswahl an gesättigten und ungesättigten Fettsäuren aufgelistet.

Tab. 1: Auswahl an gesättigten, einfach ungesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren

Wissenschaftliche Bezeichnung	Chemische Kurzformel	Trivialname	Abk.
Gesättigte Fettsäuren			
Octansäure	8:0	Caprylsäure	
Decansäure	10:0	Caprinsäure	
Dodecansäure	12:0	Laurylsäure	
Tetradecansäure	14:0	Myristinsäure	
Pentadecansäure	15:0	Pentadecansäure	
Hexadecansäure	16:0	Palmitinsäure	
Octadecansäure	18:0	Stearinsäure	
Eicosansäure	20:0	Arachinsäure	
Docosansäure	22:0	Behensäure	
Tetracosansäure	24:0	Lignoceronsäure	
D9-Desaturase-Familie			
9-Tetradecensäure	14:1 ω 5	Myristölsäure	
9-Hexadecensäure	16:1 ω 7	Palmitölsäure	
11-Octadecensäure	18:1 ω 7	Vaccinsäure	
9-Octadensäure	18:1 ω 9	Ölsäure	
11-Eicosensäure	20:1 ω 9		
5,8,11-Eicosatriensäure	20:3 ω 9		
13-Docosensäure	22:1 ω 9	Erucasäure	
15-Tetracosansäure	24:1 ω 9	Nervonsäure	
Omega-3-Familie			
9,12,15-Octadecatriensäure	18:3 ω 3	α -Linolensäure	α -LS
6,9,12,15-Octadecatetraensäure	18:4 ω 3	Stearidonsäure	
11,14,17-Eicosatriensäure	20:3 ω 3	Eicosatriensäure	
8,11,14,17-Eicosatetraensäure	20:4 ω 3	Eicosatetraensäure	
5,8,11,14,17-Eicosapentaensäure	20:5 ω 3	Eicosapentaensäure	EPS
7,10,13,16,19-Docosapentaensäure	22:5 ω 3	Docosapentaensäure	
4,7,10,13,16,19-Docosahexaensäure	22:6 ω 3	Docosahexaensäure	DHS
6,9,12,15,18,21-Tetracosahexaensäure	24:6 ω 3	Tetracosahexaensäure	
Omega-6-Familie			
9,12-Octadecadiensäure	18:2 ω 6	Linolsäure	LS
6,9,12-Octadecatriensäure	18:3 ω 6	γ -Linolensäure	
11,14-Eicosadiensäure	20:2 ω 6	Eicosadiensäure	
8,11,14-Eicosatriensäure	20:3 ω 6	Dihomo- γ -Linolensäure	
5,8,11,14-Eicosatetraensäure	20:4 ω 6	Arachidonsäure	AS
13,16-Docosadiensäure	22:2 ω 6	Docosadiensäure	
7,10,13,16-Docosatetraensäure	22:4 ω 6	Docosatetraensäure	
4,7,10,13,16-Docosapentaensäure	22:5 ω 6		

1.2.4.2 Synthesewege

Alle Eukaryoten können aus Acetyl-CoA Fettsäuren synthetisieren. So werden Fettsäuren bis zu einer Länge von 16 C-Atomen von dem cytoplasmatischen Multienzymkomplex Fettsäuresynthetase gebildet [75, 121]. Des Weiteren besitzen Eukaryoten Enzyme zur Verlängerung von Fettsäuren. Bei der Kettenverlängerung werden jeweils zwei Kohlenwasserstoffmoleküle an das Carboxylende der Fettsäurekette angehängt.

Für das Einfügen von Doppelbindungen sind die Desaturasen verantwortlich. Durch die enzymatische Entfernung von zwei Wasserstoffatomen wird eine Doppelbindung geschaffen. In Mäusen und anderen Säugern kommen die $\Delta 5$ -, $\Delta 6$ - und die $\Delta 9$ -Desaturase vor, wobei bei der Maus von der $\Delta 9$ -Desaturase vier Isoformen bekannt sind. Die Delta-Definition basiert auf der Nummerierung vom Carboxylende her. So fügt zum Beispiel die $\Delta 5$ -Desaturase eine Doppelbindung nach dem fünften C-Atom, ausgehend vom Carboxyl-C-Atom (C_1), ein.

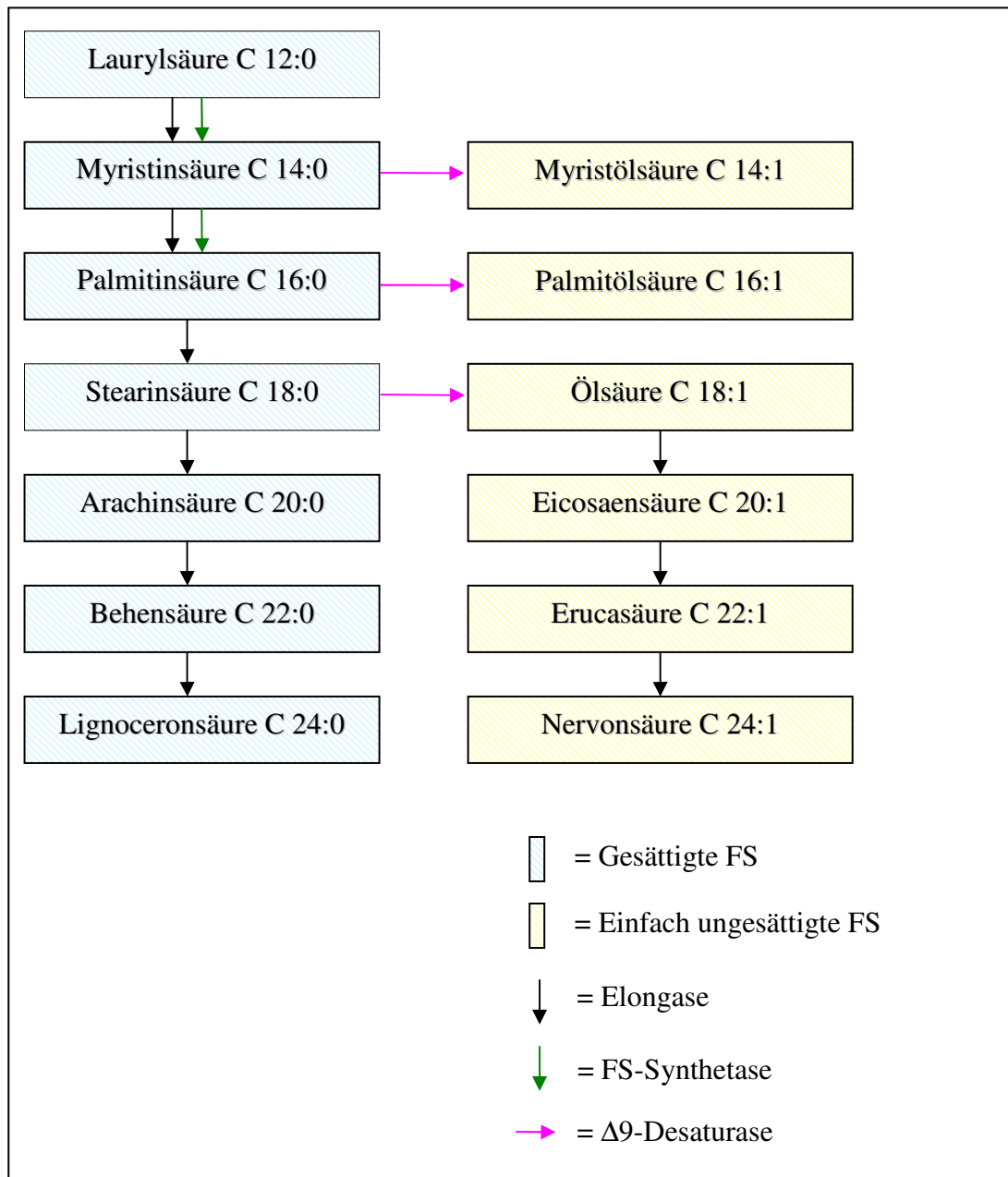


Abb. 1: Synthese von gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren. Alle Fettsäuren sind während der von Elongase und Desaturase katalysierten Reaktionen an CoA verestert.

Insbesondere die ω -6- und ω -3-Fettsäuren nehmen einen großen Stellenwert unter den Fettsäuren ein. Die ungesättigte Linolsäure (LS) und die Linolensäure (α -LS) sind für den menschlichen Organismus essentiell, das heißt eine Eigensynthese ist nicht möglich. Aus der LS kann Arachidonsäure (AS), aus der α -LS können Eicosapentaen- (EPS) und Docosahexaensäure (DHS) synthetisiert werden (siehe Abbildung 2). LS und α -LS konkurrieren

dabei um die $\Delta 5$ - und $\Delta 6$ -Desaturasen, wobei α -LS bevorzugt desaturiert wird. Sie gelten jedoch auch als essentielle Fettsäuren, da ihre Synthese im menschlichen Körper nicht den Eigenbedarf decken kann. AS, EPS und DHS sind Vorstufen für die Bildung von Eicosanoiden. Die Gruppe der Eicosanoide umfasst Prostaglandine, Prostazykline, Thromboxane und Leukotriene. Prostaglandine und Thromboxane werden auch als Prostanoiden bezeichnet [75].

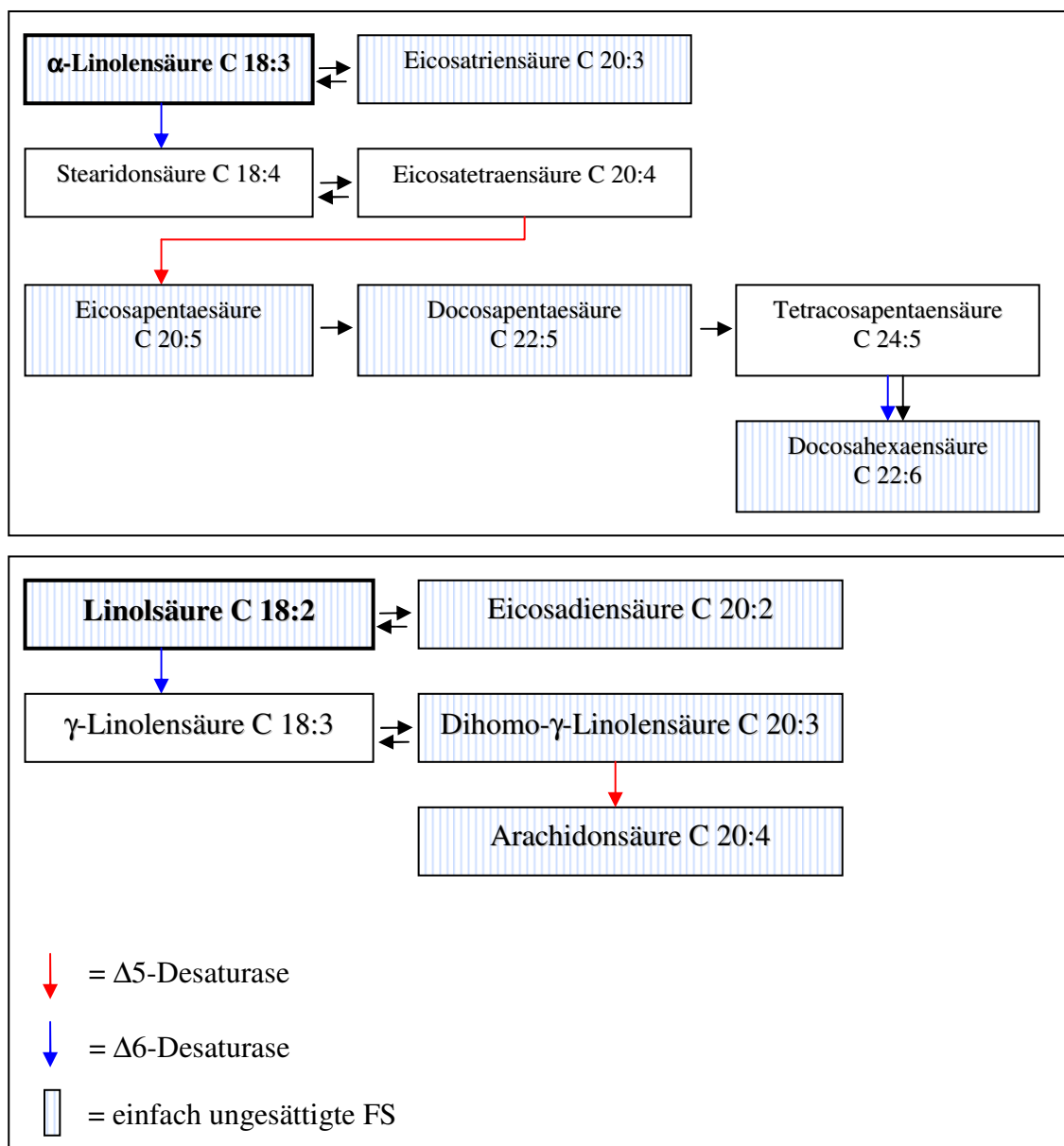


Abb. 2: Omega-3- (oben) und Omega-6-Pathway (unten). Alle Fettsäuren sind während der von Elongase und Desaturase katalysierten Reaktionen an CoA verestert.

1.3 Insulinresistenz und das metabolische Syndrom

1.3.1 Adipositas

Adipositas ist definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts. Das Gewicht wird oft durch ein größenkorrigiertes Maß, den sogenannten Body-Mass-Index (BMI), definiert. Dabei spricht man bei einem BMI von 18,5 bis 24,9 kg/m² von Normalgewicht, ab 25 kg/m² von Übergewicht und ab einem BMI ≥ 30 kg/m² von Adipositas [53]. Im Jahr 1998 hatten ca. 20 Prozent aller Deutschen einen BMI über 30 kg/m² und waren somit adipös [53]. Auch Kinder und Jugendliche leiden zunehmend unter Adipositas. Dieser Anstieg wird durch die zunehmende Industrialisierung und den damit gewonnenen Wohlstand begründet, der mit Überernährung und Bewegungsarmut einhergeht. Neben diesen Umweltkomponenten kommen auch genetische Prädispositionen in Betracht. Es werden zur Zeit eine Reihe von Genen diskutiert, welche unter adipositasfördernden Umweltfaktoren wirksam werden können [48, 114]. Adipositas ist ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung von IR, Diabetes mellitus Typ II und kardiovaskulären Erkrankungen [13, 64, 129].

1.3.2 Insulinresistenz

1.3.2.1 Definition

Insulin ist ein Hormon, das die Aufnahme und den Stoffwechsel von Glucose sowohl in Skelett- und Herzmuskelzellen als auch in Hepatocyten und Adipocyten fördert. Zusätzlich reguliert Insulin die Lipolyse in Fettzellen und die hepatische Gluconeogenese. Der Begriff IR wurde erstmals im Jahre 1939 durch Himsworth und Kerr benutzt. Sie charakterisierten mit diesem Begriff die relativ geringe Wirkung von exogenem Insulin bei adipösen Patienten mit Diabetes mellitus [57]. Unter IR versteht man ein vermindertes Ansprechen der Zellen auf das Hormon Insulin. Daraus resultiert ein Stoffwechselzustand mit hohen Insulinwerten bei normaler oder erhöhter Blutzuckerkonzentration. Um das verminderte Ansprechen der Zielorgane zu

kompensieren, schütten die Inselzellen des Pankreas vermehrt Insulin aus. Dadurch gelingt dem Organismus eine Stabilisierung des Blutzuckerspiegels. Dauert die erhöhte Insulinausschüttung jedoch über mehrere Jahre an, kann sie bei manchen Menschen nicht weiter gesteigert oder gehalten werden. Diese Veränderungen bilden die Basis für die Entstehung eines Diabetes mellitus Typ II.

Die IR steht im Mittelpunkt einer generalisierten Stoffwechselstörung, dem metabolischen Syndrom [97]. Dieses wird von einigen Autoren auch als „insulin-resistance-syndrome“ bezeichnet (siehe Kapitel 1.3.3). In der erwachsenen Bevölkerung tritt die IR mit einer Prävalenz von ca. 10-25 Prozent auf [52]. Nur ein Teil der insulinresistenten Individuen entwickelt in der Folge tatsächlich einen Diabetes mellitus Typ II. Jedoch sind 80-90 Prozent der an Diabetes mellitus Typ II erkrankten Individuen insulinresistent.

Der euglykämisch-hyperinsulinämische Clamptest gilt als wissenschaftlich fundierteste Methode, um IR zu messen. Wegen des hohen Kosten- und Zeitaufwandes kommt er allerdings nur bei Forschungstätigkeiten zum Einsatz. Es handelt sich um eine kombinierte Insulin-Glucose-Infusionstechnik, die 1979 zum ersten Mal von DeFronzo und Mitarbeitern [27] eingesetzt wurde. Dem zu untersuchenden Organismus wird eine definierte und konstante Menge Insulin infundiert, gleichzeitig wird mittels einer variablen Glukoseinfusion der Blutzuckerwert auf ein konstantes Niveau gebracht. Die Glucoseutilisationsrate, auch „M-Wert“ genannt, quantifiziert die Insulinsensitivität des Organismus – je sensitiver der Organismus auf Insulin reagiert, desto mehr Glucose muss infundiert werden um den Blutzuckerwert konstant zu halten.

Ein vereinfachtes Verfahren, um eine IR zu bestimmen, ist der sog. HOMA-Index. Es handelt sich dabei um ein mathematisches Modell, welches über die Nüchternplasmaglukose und die Nüchterninsulinkonzentration eine Berechnung der IR erlaubt [82].

Der Homa-Index errechnet sich wie folgt:

$$\text{HOMA-Index} = \frac{\text{Nüchterninsulin } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Nüchterglukose } (\text{mmol/l})}{22,5}$$

Ein niedriger Wert steht für eine hohe Insulinsensitivität, hohe Werte für eine IR. Der HOMA korreliert gut mit dem M-Wert aus dem euglykämisch-hyperinsulinämischen Clamptest [82].

1.3.2.2 Ursachen der Insulinresistenz

Die Ursache der IR ist bisher nicht eindeutig geklärt. Es ist aber klar, dass nicht ein Mangel an Insulinrezeptoren, sondern eine gestörte Weiterleitung des Insulinsignals für die Ausprägung einer IR verantwortlich ist. Bekannte Risikofaktoren die die Entstehung einer IR entscheidend beeinflussen können sind niedriges Geburtsgewicht, Adipositas, fettreiche Ernährung, Bewegungsmangel, Rauchen und Stress [11]. Insulinantagonisten wie Adrenalin und Noradrenalin, Kortison und das somatotrophe Hormon können ebenfalls an der Entstehung einer IR mitwirken [11]. Gleiches gilt für bestimmte Medikamente wie Betablocker, Thiazide und orale Kontrazeptiva.

Die typischerweise mit der Adipositas einhergehenden erhöhten Fettsäurekonzentrationen im Plasma und in verschiedenen Geweben scheinen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Entstehung der IR zu spielen. So haben Studien an Rattenmuskelzellen ergeben, dass erhöhte Spiegel an freien Fettsäuren sowohl die Glucoseaufnahme als auch den Glucosemetabolismus inhibieren [95]. Ebenfalls wird vermutet, dass ein erhöhter Spiegel an freien Fettsäuren die Signaltransduktion des Insulinrezeptors durch Hemmung der PI3-Kinase stören kann [109]. Des Weiteren kann IR experimentell durch künstliche Erhöhung freier Fettsäuren im Plasma mittels Lipidinfusionen ausgelöst werden [34, 99, 125].

1.3.3 Metabolisches Syndrom

1.3.3.1 Definition

Der Begriff „metabolisches Syndrom“ fasst Stoffwechselstörungen und Krankheiten zusammen, die als sogenannte Zivilisationskrankheiten besonders häufig in der westlichen Welt vorkommen. Das Konzept des metabolischen Syndroms wurde erstmals im Jahre 1923 durch Kylin beschrieben [67]. Er fasste damals die Erkrankungen Bluthochdruck, Hyperglykämie und Hyperurikämie zu einem Syndrom zusammen. Vague veröffentlichte im Jahre 1947 seine Beobachtungen zur Bedeutung der androgenen Adipositas auf Stoffwechselstörungen, welche im Zusammenhang mit Diabetes mellitus Typ II und Herz-Kreislaufkrankungen stehen [127]. Eine präzise Definition über Ätiologie, Pathogenese und klinisches Erscheinungsbild existiert bis heute nicht. Der Begriff des „metabolischen Syndroms“ geht auf die Publikation von Hanefeld und Leonhard aus dem Jahre 1981 zurück [50]. Das metabolische Syndrom ist aber auch als „Syndrome X“ [96] oder „deadly quartet“ [65] bekannt. Den Begriff „Insulin resistance syndrome“ prägten DeFronzo [26] und Haffner et al. [46]. Mit diesem Begriff sollte die IR als vermuteter Pathomechanismus hervorgehoben werden.

Die WHO hat im Jahre 1998 einen Katalog aus Kriterien herausgegeben, die eine IR definieren sollen [2]. Kurz darauf hat das „National Cholesterol Education Program’s Adult Treatment Panel III (NCEP: ATP III)“ [90] und die „European Group for the study of Insulin Resistance (EGIR)“ [7] ihre Definitionen veröffentlicht. Nicht alle Definitionen beinhalten die IR per se, so betont das NCEP: ATP III als pathogenetischen Faktor das Übergewicht. Im Jahre 2005 veröffentlichte die „International Diabetes Federation (IDF)“ eine im weltweiten Konsensusverfahren verabschiedete „platinum standard“-Definition. Im selben Jahr wurde die NCEP: ATP III-Definition von der „American Heart Association (AHA)“ und vom „National Heart, Lung and Blood Institute (AHA/NHLBI)“ modifiziert. Der Unterschied zur Definition der NCEP: ATP III liegt in der Grenzwertsenkung für den Nüchternblutzucker um

10 mg/dl bzw. auf 5,6 mmol/l [44]. Die Definition der IDF unterscheidet sich von der Definition des AHA/NHLBI durch eine deutliche Grenzwertsenkung des Taillenumfanges bei Männern von ≥ 102 auf ≥ 94 cm und von ≥ 88 auf ≥ 80 cm für Frauen. Die abdominale Adipositas ist laut IDF ein unbedingtes Kriterium für eine IR [62].

Tab. 2: Vergleich der Definitionen des Metabolischen Syndroms verschiedener Organisationen. M: Male (männlich); F: Female (weiblich); BMI: Body mass index; SB: Systolischer Blutdruck; DB: Diastolischer Blutdruck

	WHO	EGIR	NCEP: ATP III
Hyperinsulinämie/ Insulinresistenz	Insulinresistenz unter hyperinsulinämischen euglykämischen Bedingungen, Glucose-Uptake unterhalb der niedrigsten Quartile der interessierenden Population.	Insulinresistenz oder Hyperinsulinämie über der höchsten Quartile (25%) der nichtdiabetischen Population liegend, Alter und Geschlecht zusammengefasst	
	<u>Plus 2 oder mehr der folgenden Parameter:</u>		<u>3 oder mehr...</u>
Adipositas	BMI: > 30 kg/m ² und/oder Hüfte/Taille: M $> 0,9$ F $> 0,85$	Taillenumfang: M ≥ 94 cm F ≥ 80 cm	Taillenumfang: M > 102 cm F > 88 cm
Blutdruck	SB/DB: $\geq 140/90$ mmHg mmHg	SB/DB: $\geq 140/90$ mmHg oder medikamentöse Behandlung einer Hypertonie	SB/DB: $\geq 135/85$ mmHg oder medikamentöse Behandlung einer Hypertonie
Nüchtern- blutglucose		≥ 110 mg/dl ($\geq 6,1$ mmol/l)	≥ 110 mg/dl ($\geq 6,1$ mmol/l)
Triglyceride	≥ 150 mg/dl ($\geq 1,7$ mmol/l)	> 180 mg/dl (≥ 2 mmol/l) oder medikamentöse Behandlung einer Dislipidämie	≥ 150 mg/dl ($\geq 1,7$ mmol/l)
HDL-Cholesterin	M < 35 mg/dl F < 39 mg/dl (M $< 0,9$ mmol/l) (F $< 1,0$ mmol/l)	< 40 mg/dl (< 1 mmol/l) oder medikamentöse Behandlung einer Dislipidämie	M < 40 mg/dl F < 50 mg/dl (M $< 1,0$ mmol/l) (F $< 1,3$ mmol/l)

1.3.3.2 Bedeutung und Prävalenz des metabolischen Syndroms

Die globale Ausbreitung der Adipositas trägt erheblich zum Bedeutungsgewinn des metabolischen Syndroms bei. Die Adipositas ist eine Komponente des metabolischen Syndroms, neben der IR, Dyslipidämie und Hypertonie. Das metabolische Syndrom begrenzt sich jedoch nicht nur auf diese vier Haupterkrankungen, vielmehr gibt es noch eine Reihe von Erkrankungen, die eng mit dem metabolischen Syndrom verknüpft sind. Als wichtigste Vertreter dieser Folgeerkrankungen sind der Diabetes mellitus und die koronare Herzkrankheit zu nennen. Die Bedeutung des metabolischen Syndroms ist daher in den letzten Jahren zunehmend erkannt worden. Die Anzahl der Publikationen, die in der biomedizinischen Literaturdatenbank Medline mit „metabolic syndrome“ verschlagwortet wurden, verzehnfachten sich seit 2000 [86].

Prävalenzangaben zum metabolischen Syndrom gestalten sich aufgrund der fehlenden einheitlichen Definition als schwierig. Neuhaase et al. [92] veröffentlichten im Jahre 2005 eine Sensitivitätsanalyse zur Prävalenz des metabolischen Syndroms in Deutschland. Auf Basis der Daten des Bundesgesundheits surveys (BGS) aus dem Jahre 1998 wurde errechnet, dass die Prävalenz des metabolischen Syndroms in der erwachsenen Bevölkerung (18-79-Jährige) in Deutschland bei über 20 Prozent liegt. Fast alle Teilnehmer der BGS-Studie konnten anhand der NCEP: ATP III-Definition klassifiziert werden. Damit hat die Prävalenz des metabolischen Syndroms in Deutschland eine ähnliche Größenordnung wie die ebenfalls nach NCEP: ATP III-Kriterien bestimmte Prävalenz von 24 Prozent in den USA [37]. Seit 2006 liegen neue Daten zur Prävalenz des metabolischen Syndroms in Deutschland vor [85]. Die Studie wurde in bundesweit 1511 zufällig ausgewählten Arztpraxen mit Hausarztfunktion durchgeführt. Insgesamt wurden 35.869 Menschen im Alter von 18-99 Jahren untersucht. Anhand dieser Studie wurde für das metabolische Syndrom eine Prävalenz von 19,8 Prozent ermittelt.

Eine konstante Erkenntnis aus allen Forschungsarbeiten ist die erhöhte Prävalenz bei älteren Menschen. So liegt beispielsweise bei iranischen Männern und Frauen im Alter von 20 bis 29 Jahren die Prävalenz am metabolischen Syndrom zu erkranken bei nur 10 Prozent, in der Altersgruppe der 60 bis 69-Jährigen hat sie sich jedoch schon auf 67 Prozent erhöht [6]. Dieser Trend spiegelt die Ergebnisse der Studie von Ford et al. wieder [37].

1.3.4 Folgeerkrankungen des metabolischen Syndroms

Das metabolische Syndrom ist mit einem erhöhten Risiko an Diabetes mellitus Typ II [45, 51, 68] und KHK [40, 63, 69, 78] zu erkranken vergesellschaftet. Die Risikoerhöhung kann allerdings nicht überraschen, da sich das metabolische Syndrom aus den Diabetes- und KHK-Risikofaktoren wie Hypertonie, Dyslipidämie und Übergewicht zusammensetzt. Die IR, in einigen Definitionen auch ein Bestandteil des metabolischen Syndroms, ist ebenfalls eine Vorstufe des Diabetes mellitus Typ II.

1.3.4.1 *Diabetes mellitus*

Unter der Bezeichnung Diabetes mellitus werden Stoffwechselveränderungen verschiedener Ursachen zusammengefasst. Beim klinisch manifesten Diabetes liegt eine dauerhafte Erhöhung der Blutglukose vor (Hyperglykämie). Die gestörte Glucosetoleranz ist durch eine inadäquate Verwertung zugeführter Glucose und gestörte Glucoseproduktion gekennzeichnet.

Nach der Klassifikation der WHO aus dem Jahre 1997 wird der Diabetes mellitus in einen Typ I, Typ II und in sonstige Typen eingeteilt. Der relative Anteil des Diabetes mellitus Typ II an der Gesamtprävalenz beträgt 85-90 Prozent, der des Typ I 5-8 Prozent [24, 28]. Diabetes mellitus Typ I tritt meist im juvenilen Alter auf. Er ist gekennzeichnet durch eine aufgrund von Virusinfekten oder Autoimmunerkrankungen verursachte β -Zell-Destruktion der Langerhansschen Zellen des Pankreas mit der Konsequenz des absoluten Insulinmangels. Der Diabetes mellitus Typ II besitzt eine viel

stärkere genetische Prädisposition [24], die Pathogenese hat jedoch mehrere Faktoren. Eine Rolle spielt zum einen eine gestörte Insulinsekretion und zum anderen eine herabgesetzte Insulinwirkung bzw. eine IR, verursacht durch eine permanent zu hohe Glucoseaufnahme. Der wichtigste Manifestationsfaktor ist die Adipositas. 80 Prozent der an Diabetes mellitus Typ II Erkrankten sind übergewichtig.

In Deutschland sind 5 Millionen Menschen nachweislich an Diabetes mellitus erkrankt [28]. Zusätzlich rechnet man mit 2-3 Millionen bisher nicht diagnostizierten Fällen [28]. Aufgrund des steigenden Ausmaßes der Überernährung in Deutschland ist zu erwarten, dass die Zahl der an Diabetes erkrankten Patienten noch drastisch ansteigen wird. Nach Schätzungen des Deutschen Diabetiker-Bundes werden 2010 ca. 10 Millionen Diabetiker in Deutschland leben. Bei dieser Zahl sind noch nicht die sog. Prä-Diabetiker, welche Vorstufen der Erkrankung wie erhöhte Nüchtern-glucosewerte oder eine verschlechterte Glucosetoleranz zeigen, einberechnet. Für das Jahr 2025 rechnet die WHO weltweit mit 330 Millionen an Diabetes mellitus erkrankten Menschen.

Bei lange bestehendem Diabetes (10-20 Jahre) finden sich bei 40-50 Prozent der Patienten eine klinisch manifeste Mikro- und Makroangiopathie [12]. Die Mikroangiopathie betrifft das Kapillarsystem und ist so ursächlich für die diabetische Retinopathie, autonom diabetische Neuropathie, Polyneuropathie und diffuse und noduläre Glomerulosklerose. Die Makroangiopathie ruft Zerebral-Arteriosklerose, koronare Herzkrankheit (KHK), Hypertonie und periphere arterielle Verschlusskrankheit hervor.

1.3.4.2 *Kardiovaskuläre Erkrankungen*

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen in den Industrienationen nach wie vor die häufigste Todesursache und Behinderungsgrund dar [43, 73, 76, 119]. Laut Angaben des statistischen Bundesamtes erlag im Jahre 2004 nahezu jeder zweite Gestorbene (45 Prozent) einer Erkrankung des Herzkreislaufsystems [117]. Infolge von Kreislaufkrankungen starben

insbesondere ältere Menschen, 90 Prozent der Verstorbenen waren über 65 Jahre alt [117]. Die häufigste Todesursache bei den kardiovaskulären Erkrankungen war die ischiämische Herzkrankheit (152.659 Sterbefälle), gefolgt vom Myokardinfarkt (akuter und rezidivierender: 67.149 Sterbefälle) [117]. Als Ursache dieser Erkrankungen gilt die Atherosklerose. Die Atherosklerose ist eine inflammatorische, systemisch vorkommende Erkrankung, die insbesondere große und mittelgroße elastische sowie muskuläre Arterien betrifft [24]. Als Risikofaktoren gelten Hyperlipoproteinämie, Hypertonie, Diabetes mellitus, Adipositas, Bewegungsmangel und das Rauchen [12, 24, 70, 76]. Atherosklerose tritt bevorzugt beim männlichen Geschlecht als auch im hohen Alter auf [119]. Aus diversen Studien ist bekannt, dass das Risiko an KHK und Atherosklerose zu erkranken, mit einem hohen LDL-Cholesterinspiegel und einem niedrigerem HDL-Spiegel ansteigt [4, 19, 41, 42, 49, 75, 76, 116, 131].

1.3.4.3 Hypertonie

Die Hypertonie ist eine Blutdruckerhöhung über den Normwert hinaus. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert Blutdruckwerte von systolisch über 160 mmHg und von diastolisch über 95 mmHg als hyperten. Die Hypertonie ist in der Regel asymptomatisch, leicht erkennbar und unkompliziert zu behandeln. Aber wenn die Hypertonie nicht behandelt wird, führt sie häufig zu letalen Komplikationen [29, 76]. Die Hypertonie begünstigt die Entstehung von Endothelschäden und fördert somit die Atherosklerose [3, 12, 77, 80]. Besonders an Stellen veränderter physikalischer Strömungsbelastung, wie zum Beispiel Koronararterien, Arteria carotis und Arteria renalis kommt es zu endothelialen Dysfunktionen [12, 76].

1.4 Ziel der Arbeit

Die Adipositas ist gegenwärtig weltweit die häufigste nahrungsassoziierte Erkrankung. Die rapide ansteigende Anzahl an übergewichtigen Menschen in den Industrienationen führt zu einem deutlich erhöhten Auftreten der Insulinresistenz (IR). Die frühen Marker und Mechanismen der mit Adipositas assoziierten IR sind jedoch relativ unerforscht.

Diese Dissertation beruht auf einem Mausmodell, welches eine Untersuchung diätinduzierter Adipositas und IR erlaubt. Durch eine fettreiche Ernährung von Mäusen lässt sich eine IR erzeugen. Gezielte Untersuchungen an diesen Tieren können frühe ernährungsbedingte Veränderungen des Organismus aufdecken. In dieser Dissertation werden die Fettsäuremuster sowohl im Plasma, Leber- und Muskelgewebe als auch im subkutanen und epididymalen Fettgewebe der Mäuse analysiert. Neben der Analyse des Gesamtgehaltes an veresterten und unveresterten Fettsäuren im Plasma bzw. Organ werden die Fettsäuren nach Kettenlänge und Grad der Sättigung aufgetrennt. Es werden aufgrund der Synthesewege und biologischen Funktion der jeweiligen Fettsäuren die ungesättigten Fettsäuren in die Gruppe der Omega-3-, Omega-6- und Delta-9-Desaturase-Fettsäuren eingeteilt. Dadurch können nicht nur Unterschiede in den Konzentrationen oder in der prozentualen Verteilung verschiedener Fettsäuren, sondern auch das Maß der Synthese bzw. des Stoffwechsels von Fettsäuren berücksichtigt werden.

Durch die gezielte Analyse der Fettsäuren können mögliche neue Pathomechanismen zur Entstehung einer IR erkannt werden. Die Daten aus dem Mausmodell können möglicherweise als eine Grundlage zur Untersuchung am Menschen genutzt werden.

2. Materialien und Methoden

Da die praktische Arbeit im Labor darin bestand, Plasma und verschiedene Organe von Mäusen im Hinblick auf die Fettsäurezusammensetzung aufzuarbeiten und zu analysieren, sollen in diesem Kapitel die grundlegenden Verfahrensweisen erläutert werden.

2.1 Bestimmung der Gesamtfettsäuren im Plasma

2.1.1 Materialien

2.1.1.1 Geräte und Instrumente

Es wurden die nachfolgend aufgeführten Geräte und Instrumente verwendet.

Gaschromatograph:

Series II 5890 (Hewlett Packard)

- Auto-Sampler 7673A (Hewlett Packard)
- Injektor 260 °C, Injektionsvolumen 1µl; Split/Splitless, 90sec. Purge off
- Säule:DB-225, Länge 30m, i.D 0,25mm, Filmdicke 0,25µm; (Agilent)
- Flammenionisationsdetektor: 300 °C, Helium make up Gas, 30ml/min
- Trägergas: Helium, 37m/s bei 70 °C, konstanter Fluss

Die Einstellungen des Gaschromatographen werden in allen Versuchen beibehalten.

Trockenschrank:

Memmert

- Temperatur regulierbar, Automatikabschaltung
- Die Temperatur wurde für alle Proben auf 100 Grad Celsius festgelegt

Vortexer:

Heidolph Reax 2000

Waage:

Sartorius LA120S, 0,1mg genau

Zentrifuge:

Laboratory Centrifuges 6 K 15 (Sigma)

· Rotor Nr. 13127; 306g; 299/01 (Sigma)

Pipetten:

Gilson Pipette:

· 10-200 μ l

Eppendorf Pipette:

· 10-100 μ l

· 100-1000 μ l

· 500-1000 μ l

Labsystems Pipetti:

· 50-200 μ l

· nur zur Benutzung für Acetylchlorid vorgesehen

2.1.1.2 Verbrauchsmaterialien

Es wurden die nachfolgend aufgeführten Verbrauchsmaterialien verwendet.

Fläschchen für die Gaschromatographie:

Flasche R1, braun 62mm BF, Art-Nr.:301128

mit Mikroeinsatz: G301s, 6mm WR6100, Art.-Nr.:301407 und Bördelkappe: R11-1.0/HP WE6260, Art.-Nr.: 301114 (CS-Chromatographie Service GmbH)

Reagenzgläser mit hitzebeständigem Kunststoffschraubdeckel (Schott, max. 180 Grad Celsius) und Teflondichtung

· Die Kunststoffschraubdeckel werden vor jeder Benutzung zweifach mit Ethanol und anschließend mit Hexan gewaschen.

Pipettenspitzen:

- Sarstedt 200µl gelb, 1000µl blau
- Gilson 5000µl farblos

2.1.1.3 Chemikalien

Tabelle 3 listet alle zur Fettsäurebestimmung im Plasma verwendeten Chemikalien auf.

Tab. 3

Chemikalie:	Hersteller:
Acetylchlorid	Fluka
BHT(2,6-di-tert-butyl-p-cresol)	Fluka
Ethanol 96%	Walter CMP GmbH & Co. KG
Heptadecansäure	Fluka
Hexan: p.a.-Qualität	Roth
Methanol: p.a.-Qualität	Roth
Natriumcarbonat: p.a.-Qualität	Merck
Toluol: p.a.-Qualität	Merck

Angesetzte Lösung/Chemikalie:	Verhältnis:
BHT-Lösung	0,1M BHT in Toluol
Heptadecansäurestandard	200µg HDS auf 1ml Methanol:Toluol (4:1)
Methanol-Toluol	4:1 (V:V)
Natriumcarbonatlösung	12% / 6% Natriumcarbonat auf deion. H ₂ O

2.1.2 Methoden

2.1.2.1 *Prinzip der Lipidderivatisierung*

Um die in den Lipidklassen enthaltenen Fettsäuren mit dem Gaschromatographen messen zu können, müssen diese zunächst in eine flüchtige Verbindung überführt werden. Am besten eignen sich hierfür Methylester der Fettsäuren.

Die Lipide müssen daher verseift und anschließend in einer zweiten Reaktion neu verestert werden. Diese Prozesse sind einzeln ausgeführt sehr zeitintensiv und verlustreich [32]. Daher ist man heute zu der so genannten „one-step“ bzw. „direct transesterification“ übergegangen, bei der eine direkte Umesterung der Lipide mit einem Alkohol (Alkoholyse) stattfindet [39, 72, 105, 107]. Die Reaktionen finden in ein und demselben Reagenzgefäß statt. In jedes Probengefäß wird zunächst 25µl BHT-Lösung als Antioxidans pipettiert, damit die Fettsäuren sich während der Umesterung nicht verändern [23]. Die direkte Umesterung benötigt als Katalysator Säure in Form von Acetylchlorid und läuft bei 100°C ab. (siehe 2.1.2.3). Durch die Zugabe von Methanol:Toluol (4:1) als Lösungsmittel können die Fettsäuremethylester nach Wasserzugabe in der Toluolphase isoliert werden, was deren Abpipettieren möglich macht.

2.1.2.2 *Prinzip der Gaschromatographie*

Bei der hier angewandten Gaschromatographie wird ein Gemisch löslicher Substanzen (Analyten) mittels einer beweglichen Phase (Helium) über eine stationäre Phase (Film in der Gaschromatographiesäule) bewegt und dabei in seine Bestandteile zerlegt.

Innerhalb der Gaschromatographiesäule findet die eigentliche Trennung der Substanzen statt. Die Säule ist eine 30 Meter lange Quarzkapillare mit einem Innendurchmesser von 0,25 Millimeter. Die innere Oberfläche des Quarzes

ist mit einem Polymer, das sehr polare Cyanopropylgruppen und wenig polare Trimethylgruppen zu gleichen Anteilen enthält, beschichtet.

Die Probe wird mittels einer Mikroliterspritze durch ein selbstschließendes Septum in den Injektor des Gaschromatographen eingespritzt. Der Injektor ist auf 260 °C temperiert, was zur Folge hat, dass die eingespritzte Probe verdampft und auf die Säule gelangt. Da die verschiedenen Substanzen innerhalb der Probe unterschiedliche Siedepunkte und Polaritäten haben, erreichen sie nach unterschiedlicher Zeit das Ende der Säule bzw. den Flammenionisationsdetektor (FID). Je mehr C-Atome eine Fettsäure enthält, desto länger ist die Retentionszeit. Abbildung 3 stellt den Aufbau einer Anlage zur Gasflüssigkeitschromatographie schematisch dar.

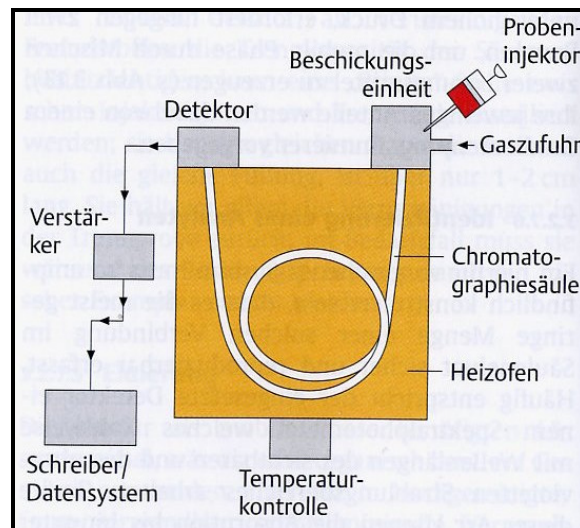


Abb. 3: Anlage zur Gasflüssigkeitschromatographie [98]

Aufgrund der teils sehr polaren Eigenschaften der Säule ist neben der Auftrennung nach Kettenlänge (Anzahl der C-Atome) auch eine Auftrennung nach Anzahl der Doppelbindungen möglich. Fettsäuren mit gleicher Anzahl aber unterschiedlicher Lokalisation der Doppelbindungen können somit auch getrennt werden. So retinieren ω -3-Fettsäuren stärker als ω -6-Homologe. Jede zusätzliche Doppelbindung verlängert die Retentionszeit einer Fettsäure. Die Retentionszeit ist von verschiedenen Faktoren abhängig, daher ist es möglich, dass sich bei Verwendung anderer Säulen die Retentionszeiten verschieben [32]. Am Flammenionisationsdetektor wird eine durch Verbrennung von Wasserstoff und Sauerstoff erzeugte Knallgas-Flamme durch eine Düse geführt, welche gleichzeitig eine Elektrode bildet.

Eine zweite Elektrode ist nahe der Düsenspitze angeordnet. Die von der Säule kommende Verbindung wird in der bis zu 400 °C heißen Flamme zersetzt, wobei unter anderem Radikale, Elektronen und Ionen entstehen (siehe Abbildung 4). Die Ionen erzeugen ein elektrisches Signal, welches nach Verstärkung registriert und gespeichert wird. Die Stromstärke bzw. das Signal ist proportional zur Menge der Ionen und so auch zur Menge der verbrannten Substanz. Schwache Hintergrundsignale werden so umgeformt, dass eine konstante Grund- oder Basislinie entsteht, gegen die sich die spezifischen Signale deutlich absetzen.

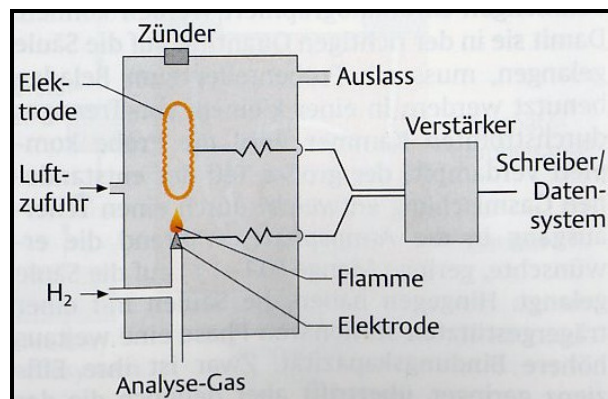


Abb. 4: Aufbau eines Flammenionisationsdetektors [98]

Das Auswertungsprogramm stellt das elektrische Signal grafisch in Form eines Peak dar (siehe Abbildung 5). Die Fläche des Peak ist proportional zur Substratkonzentration. Die Darstellung des Signals erfolgt in Abhängigkeit zur verstrichenen Zeit (Retentionszeit) seit Messungsbeginn.

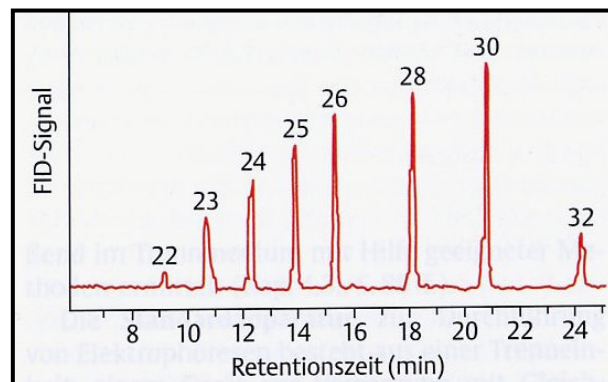


Abb. 5: Gaschromatogramm [98]

Die Quantifizierung erfolgt nach der internen Standardmethode. Anhand der definiert zugegebenen Menge an Heptadecansäure kann die Menge der Fettsäuren errechnet werden. Alle Ergebnisse werden in einem Report festgehalten.

Die Dauer der Analyse einer Probe mit dem Gaschromatographen ist variabel. Sie ist vom Temperaturprogramm und von den diversen Einstellungen des Chromatographen abhängig [81]. Das hier verwendete Temperaturprogramm hat eine Dauer von 56 Minuten. Alle in dieser Doktorarbeit ermittelten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

2.1.2.3 Durchführung

Die Plasmaproben (10µl) liegen Idealerweise in Reagenzgläsern vor. In jedes Probengefäß wird zunächst 25µl BHT-Lösung als Antioxidans pipettiert. Danach pipettiert man 50µl Heptadecansäurestandard (interner Standard) in den Ansatz. Aus dem Dispenser gibt man nun 2ml Methanol-Toluol (4:1) hinzu. Zu diesem Gemisch werden jetzt unter vorsichtigem vortexen mit einer Pipette 200µl Acetylchlorid hinzugefügt.

Die Probengefäße werden mit Kunststoffcaps dicht verschlossen und für eine Stunde in den auf 100 Grad Celsius vortemperierten Trockenschrank gestellt.

Anschließend werden die Probengefäße bis auf Raumtemperatur abgekühlt. Danach werden die Reaktionsgemische mit 2,5ml Natriumcarbonatlösung (12 Prozent) neutralisiert. Die Gefäße werden wieder fest verschlossen und 5 Minuten bei Raumtemperatur und 3000Upm zentrifugiert.

Nach dem Zentrifugieren zeichnet sich in den Probengefäßen eine Phasentrennung ab. Aus der oberen Phase werden jetzt 150µl in ein Gaschromatographiefläschchen mit Insert (Einsatz) pipettiert. Das Fläschchen wird sofort mit einer Bördelkappe dicht verschlossen. Die Proben können nun mit dem Gaschromatographen gemessen werden oder in der Tiefkühltruhe bei -30 bis -80 Grad Celsius gelagert werden.

2.2 Bestimmung der Gesamtfettsäuren in der Leber

2.2.1 Materialien

2.2.1.1 Geräte und Instrumente

Zusätzlich zu den unter 2.1.1.1 genannten Apparaturen werden folgende Geräte und Instrumente eingesetzt:

Ultra Thurrax:

Janke & Kunkel

Inkubator:

Unitron HT Infors

· Die Proben wurden 30 Minuten bei 50 Grad Celsius und 160Upm inkubiert.

Skalpell

Pinzette

2.2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Es wurden dieselben Verbrauchsmaterialien wie unter 2.1.1.2 verwendet.

2.2.1.3 *Chemikalien*

Die Chemikalien entsprechen Abschnitt 2.1.1.3. Zusätzlich zu den in Tabelle 3 aufgeführten Chemikalien wurde die in Tabelle 4 aufgelistete Chemikalie benutzt:

Tab. 4

Angesetzte Lösung/Chemikalie:	Verhältnis:
Chloroform-Methanol	2:1 (V:V)

2.2.2 *Methoden*

2.2.2.1 *Prinzipien der Homogenisierung von Geweben*

Um die Fettsäuren eines Organs (zum Beispiel Leber) analysieren zu können, muss man das Organ zunächst mechanisch zerkleinern. Eine solche Maschine zur Homogenisierung von Geweben ist der Ultra Turrax von Janke und Kunkel. Seine rotierenden Klingen zerkleinern jegliches Gewebe mühelos.

Die chemische Isolierung der Fettsäuren erreicht man mittels der Folch-Extraktion. Das Chloroform dient als Fettlöser, während das Methanol die Proteine denaturiert und somit die assoziierten Fettsäuren löst. Die Hitze des Inkubators erhöht die Reaktionsgeschwindigkeit, die Bewegung erhöht die Kinetik der Lösung. Zentrifugiert man ein solch hergestelltes Homogenisat, so bildet sich am Boden des Zentrifugenglases ein „Pellet“ bestehend aus Proteinen, darüber der Folch-Extrakt mit den freien Fettsäuren.

2.2.2.2 *Durchführung*

Die Proben wurden bei -80 °C aufbewahrt. Von jeder gefrorenen Leber werden ca. 50mg mit Hilfe des Skalpell und der Pinzette abgetrennt und in einem Reagenzglas abgewogen. Dabei liegt das Probengefäß auf

Trockeneis, damit die Organe nicht an- oder auftauen. In jedes Probengefäß werden 250µl BHT-Lösung als Antioxidans pipettiert. Die abgewogenen Präparate werden auf Eis gelagert.

Zu jedem Probengefäß werden 4ml Chloroform-Methanol Lösung hinzu gegeben. Anschließend werden die Proben sechsmal für jeweils 10 Sekunden mit dem Ultra Thurrax homogenisiert. Zwischen den Intervallen werden die Probengefäße mit Eis gekühlt. Ist die Homogenisierung abgeschlossen, werden der Schaft und die Klinge des Gerätes zweimal mit 1ml Chloroform-Methanol Lösung abgespült. Die Gefäße werden dicht verschlossen und für 30 Minuten bei 50°C und 160Upm in den Inkubator gestellt. Anschließend werden die Probengefäße für 15 Minuten bei Raumtemperatur und 4000Upm zentrifugiert.

Für jede Probe wird eine Dreifachbestimmung angesetzt. Dazu werden in zuvor mit Methanol-Toluol gewaschene Reagenzgläser jeweils 100µl des Überstandes, 50µl Heptadekansäurestandard und 2ml Methanol-Toluol (4:1) pipettiert. Zu diesem Gemisch werden jetzt unter vorsichtigem vortexen mit einer Pipette 200µl Acetylchlorid hinzugefügt. Das weitere Procedere entspricht der Durchführung der Lipidderivatisierung (siehe 2.1.2.3).

Die Restmenge des Überstandes wird für spätere Versuche in Gaschromatographiefläschchen aufbewahrt und bei -30°C eingefroren.

2.3 Bestimmung der Gesamtfettsäuren im Muskel

2.3.1 Materialien

Die Materialien entsprechen Abschnitt 2.2.1.

2.3.2 Methoden

Die Methoden entsprechen Abschnitt 2.2.2. Es werden ebenfalls 50mg Muskelgewebe (Ober- und Unterschenkelmuskulatur) eingesetzt.

2.4 Bestimmung der Gesamtfettsäuren im subkutanen und epididymalen Fettgewebe

2.4.1 Materialien

Die Materialien entsprechen Abschnitt 2.2.1.

2.4.2 Methoden

Die Methoden entsprechen Abschnitt 2.2.2. Es werden ebenfalls 50mg des jeweiligen Fettgewebes eingesetzt. Die labortechnische Arbeit dieser Bestimmung wurde von Medizinisch-Technischen-Angestellten des Instituts erledigt.

3. Ergebnisse

3.1 Allgemeines Projektdesign

Diese Promotion erfolgte im Rahmen einer Kooperation des Biochemischen Instituts des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf und des Unternehmens Eli Lilly. Das Gesamtprojekt trägt den Titel „Von der Klinik zur Zellbiologie – Untersuchungen zur Übergewichts-induzierten Insulin-resistenz“.

Die Arbeit basiert auf Experimenten an männlichen C57Bl/6J Mäusen. Für die Behandlung der Mäuse und Gewinnung der Gewebe waren die Lilly Research Laboratories in Indianapolis (Indiana 46285) verantwortlich. Die Blut- und Gewebeproben sind anschließend nach Deutschland überführt worden.

3.1.1 Studiendesign

Bei der Mausstudie kamen drei Fütterungsgruppen zum Einsatz. Jede Gruppe umfasst 16 Mäuse. Die Fütterung der Tiere begann in der dritten bis vierten Lebenswoche und dauerte 16 Wochen an.

Die erste Mausgruppe trägt die Bezeichnung „Kontrollgruppe“. Diese Mausgruppe wurde mit Standardfutter ernährt (siehe 3.2). Die zweite Mausgruppe trägt die Bezeichnung „DIO“ (Abkürzung für „Diet induced obesity“, also „Nahrungsbedingt induzierte Fettleibigkeit“). Diese Mäuse wurden mit einer fettreichen Nahrung gefüttert (siehe 3.2). Die dritte Mausgruppe trägt die Bezeichnung „HFD1“ (Abkürzung für „High fat diet one week“, also „Fettreiche Nahrung für eine Woche“). Diese Mausgruppe erhielt für 15 Wochen Standardfutter, anschließend eine Woche lang dieselbe fettreiche Nahrung, welche die DIO-Mäuse erhalten haben. Nach dieser einwöchigen, fettreichen Ernährungsphase fand wie bei allen Gruppen die Organentnahme statt. Die Hälfte der Mäuse jeder Gruppe erhielt 16 Stunden vor der Organentnahme, das heißt am Vortag die letzte Nahrung. Diese

Mäuse haben somit für 16 Stunden vor der Organentnahme gefastet (Bezeichnung dieses Parameters: „Nüchtern“). Die andere Hälfte der Mäuse, inklusive der Kontrollgruppe, erhielt nach dieser 16stündigen Fastenzeit Zugang zur fettreichen Nahrung (Bezeichnung dieses Parameters: „Postprandial“). Die Organentnahme fand dann erst um 12:00 desselben Tages statt, die Mäuse hatten somit über einen Zeitraum von vier Stunden Zugang zu Futter. Die Mäuse wurden mittels Isofluran anästhesiert, das Plasma wurde mittels Herzpunktion aus dem rechten Herzventrikel entnommen. Die verschiedenen Gewebe wurden nach Perfusion präpariert und bei -80 Grad Celsius getrennt eingefroren.

Insgesamt umfasst die Studie nun sechs unterschiedlich behandelte Mausgruppen, wie in Abbildung 6 dargestellt.

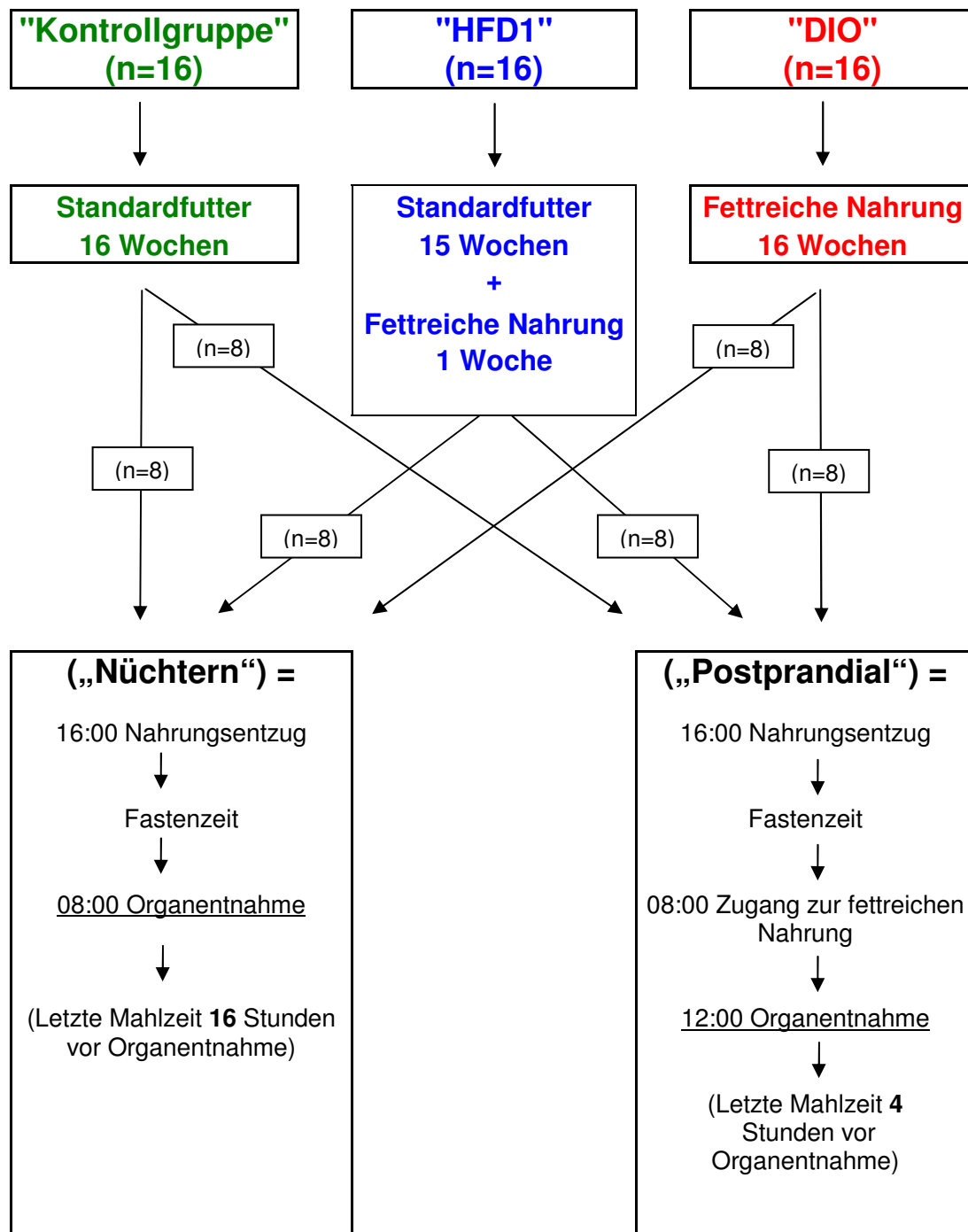


Abb. 6: Studiendesign

Die 48 Mäuse wurden systematisch auf 12 Käfige aufgeteilt. Es befanden sich jeweils vier Mäuse gleicher Gruppierung in einem Käfig.

3.2 Nahrungsbestandteile der Diäten

Als Standardfutter („Chow Diet“) wurde „Purina 5001“ (LabDiet) in Form von Pellets verwendet. Als fettreiche Nahrung („HFD“) wurde „Bio-Serv´s Diet

#F3282“ (Rodent) gegeben, ebenfalls in Form von Pellets. Tabelle 5 stellt die Bestandteile als auch die Fettsäurezusammensetzung des Standardfutters und der fettreichen Nahrung dar. Der hohe Fettgehalt und die Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung der fettreichen Nahrung sind eindeutig erkennbar.

Tab. 5: Vergleich „Purina 5001“ (LabDiet) mit „Bio-Serv's Diet #F3282“ (Rodent),
n.n. = nicht nachweisbar

<u>Nahrungsbestandteile</u>			
<u>Standardfutter (Purina 5001)</u>			
Bereitgestellte Kalorien aus:	%		
Protein	28,049		
Fett	12,137		
Kohlenhydrate	59,814		
Total	100		
<u>Fettreiche Nahrung (Bio-Serv's Diet #F3282)</u>			
Bereitgestellte Kalorien aus:	%	kcal/gm	
Protein	16,16	0,854	
Fett	59,36	3,138	
Kohlenhydrate	24,48	1,294	
Total	100	5,286	
<u>Fettsäurezusammensetzung der Tierdiäten</u>			
	<u>Standardfutter</u>	<u>Fettreiche Nahrung</u>	
	<u>Purina 5001</u>	<u>BIO-Serv's Diet</u>	<u>Quotient fettreicher zu</u>
	<u>[µg/mg]</u>	<u>#F3282 [µg/mg]</u>	<u>fettarmer Nahrung</u>
C10 Caprinsäure	0,11	0,23	2
C12 Laurylsäure	0,47	0,24	0,5
C14 Myristinsäure	0,45	3,42	8
C14:1 Myristölsäure	0,03	0,08	3
C16 Palmitinsäure	3,90	54,72	14
C16:1 Palmitölsäure	0,10	4,91	49
C18 Stearinsäure	2,23	27,94	13
C18:1 Ölsäure	10,38	95,64	9
C18:1 Vaccinsäure	0,26	7,32	28
C18:2 Linolsäure	25,01	41,23	1,6
C18:3 g-Linolensäure	0,01	0,10	10
C18:3 α-Linolensäure	0,02	0,01	0,7
C20 Arachinsäure	0,13	0,49	4
C20:1 Eicosaensäure	0,08	1,93	24
C20:4 Arachidonsäure	0,03	0,55	18
C20:5 Eicosapentaensäure	0,32	0,31	1
C22 Behensäure	0,24	0,03	0,1
C24 Lignoceronsäure	0,15	0,15	1
C22:6 Docosahexaensäure	n.n.	0,05	-
Summe Fettsäuren [µg/mg]	43,92	239,36	5
Verhältniss ω-6- zu ω-3-FS	74:1	110:1	

3.3 Charakterisierung der Mäuse zum Zeitpunkt der Organentnahme

Bevor die Organentnahme stattgefunden hat, wurde das Gewicht der Mäuse ermittelt. Höhere Gewichte weisen auf Fettleibigkeit hin. Bei der Präparation der Beinmuskulatur zwecks Muskelgewebeentnahme fiel auf, dass diese bei den DIO-Mäusen mehr muskelassoziiertes Fettgewebe besaß als die der Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse.

In Tabelle 6 finden sich die mittleren Gewichte mit Standardfehler der Mausgruppen vor.

Tab. 6: Mittleres Gewicht der Mäuse mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: b = $p < 0,001$.

Mausgruppe	Mittleres Gewicht \pm SF [g]
Kontrollgruppe + Nüchtern	23,0 \pm 0,5
HFD1 + Nüchtern	27,0 \pm 0,7 **
DIO + Nüchtern	44,9 \pm 0,7 ** b
Kontrollgruppe + Postprandial	24,5 \pm 0,7
HFD1 + Postprandial	30,5 \pm 1,0 **
DIO + Postprandial	45,3 \pm 0,6 ** b

Aus den ermittelten Daten geht hervor, dass alle DIO-Mäuse wesentlich fettleibiger als die Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse sind. Bemerkenswert ist jedoch auch das signifikant erhöhte Gewicht der HFD1-Mäuse gegenüber der Kontrollgruppe. Die fettreiche Ernährung über einen Zeitraum von einer Woche hat somit eine Gewichtszunahme bewirkt. Eine graphische Darstellung der Tabelle 6 ist in der nachfolgenden Abbildung 7 vorzufinden.

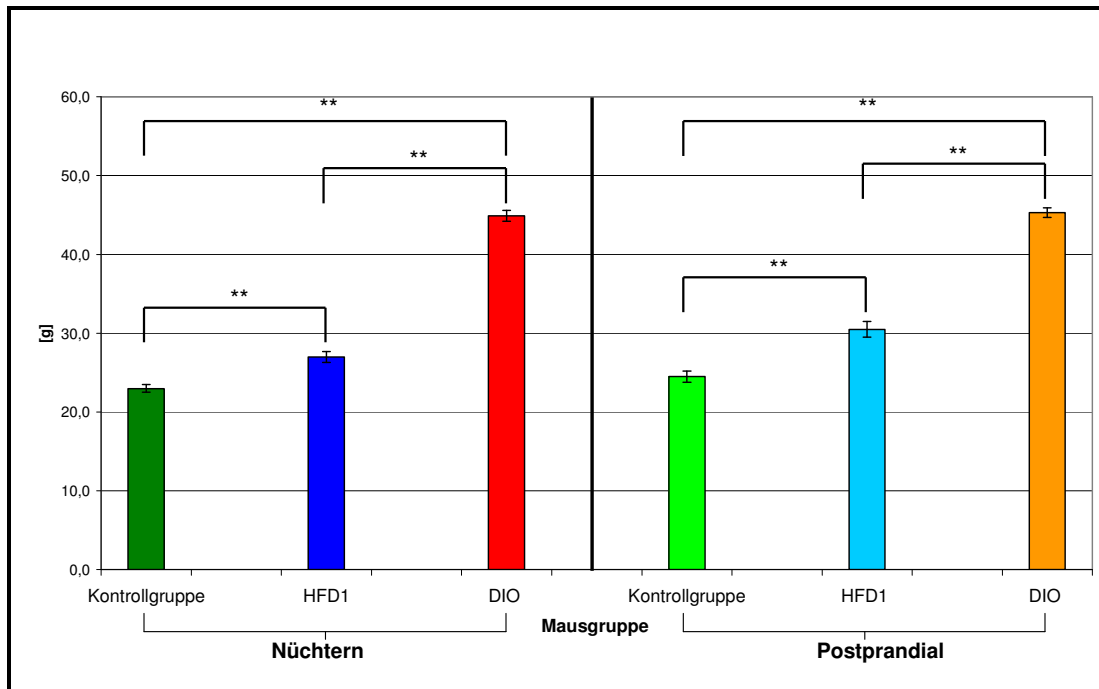


Abb. 7: Mittleres Gewicht der Mäuse mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. ** = $p < 0,001$.

3.4 Plasmainsulin- und Plasmaglucoosespiegel der Mäuse zum Zeitpunkt der Organentnahme

Zur Bestimmung des metabolischen Zustandes der Mäuse wurden die Insulin- und Glucosespiegel in den Lilly Research Laboratories und Cholesterin- und Triglyceridspiegel im Institut für Biochemie und Molekularbiologie II (UKE) ermittelt. Abbildung 8 und 9 stellen die gemessenen Werte dar.

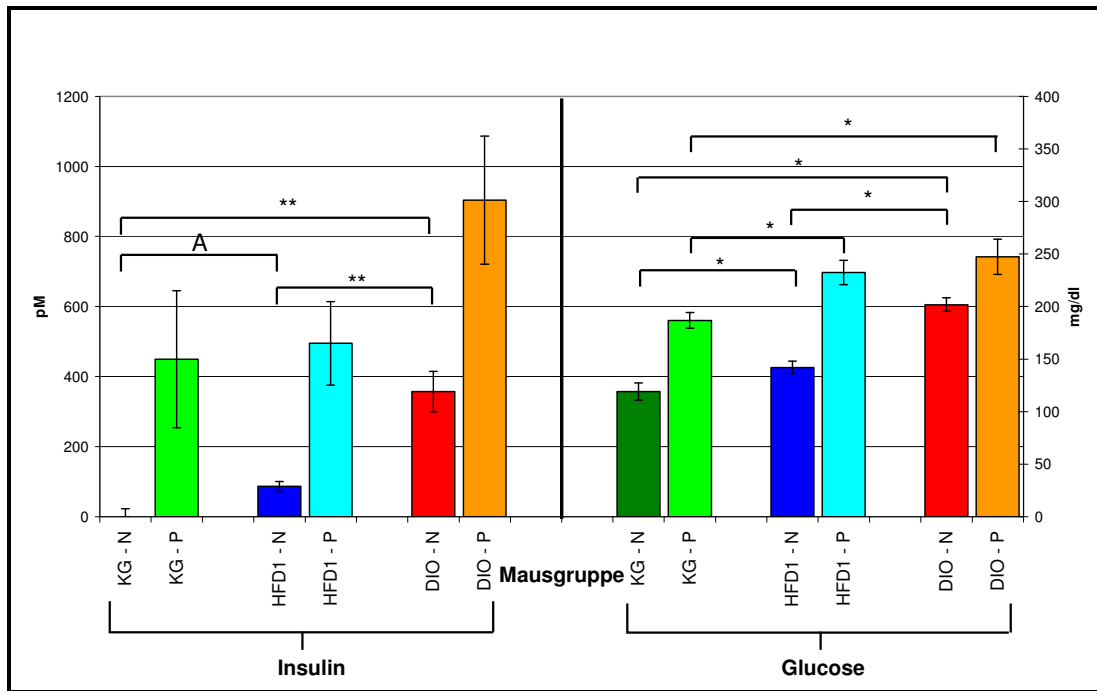


Abb. 8: Insulin- [pM] und Glucoseplasmaspiegel [mg/dl] der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. KG = Kontrollgruppe; N = Nüchtern; P = Postprandial. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$. A = Mann Whitney U-Test (0,0011)

In der Abbildung 8 sind auf der linken Seite die Insulinwerte dargestellt. Bei sieben von acht Kontrolltieren der Nüchtern-Messung lagen die ermittelten Insulinplasmaspiegel unter der Nachweisgrenze von 56 pM. Nach Ausführung eines Mann Whitney U-Test zeigt sich der Unterschied zwischen den Insulinplasmaspiegeln der Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse der Nüchtern-Messung als signifikant (0,0011). Die DIO-Mäuse haben verglichen mit den beiden anderen Nüchtern-Messungen (Kontrollgruppe und HFD1) einen signifikant erhöhten Insulinplasmaspiegel. Die Postprandial-Messungen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander, was an der hohen Streuung der Messdaten liegt. Auf der rechten Seite des Diagrammes sind die Glucosewerte abgebildet. Auch hier liegen die Glucoseplasmaspiegel der DIO-Mäuse der Nüchtern-Messung signifikant niedriger als bei den anderen beiden Nüchtern-Messgruppen. Die Glucosekonzentration der Kontrollgruppe der Postprandial-Messung ist signifikant niedriger als die der anderen Postprandial-Messungen.

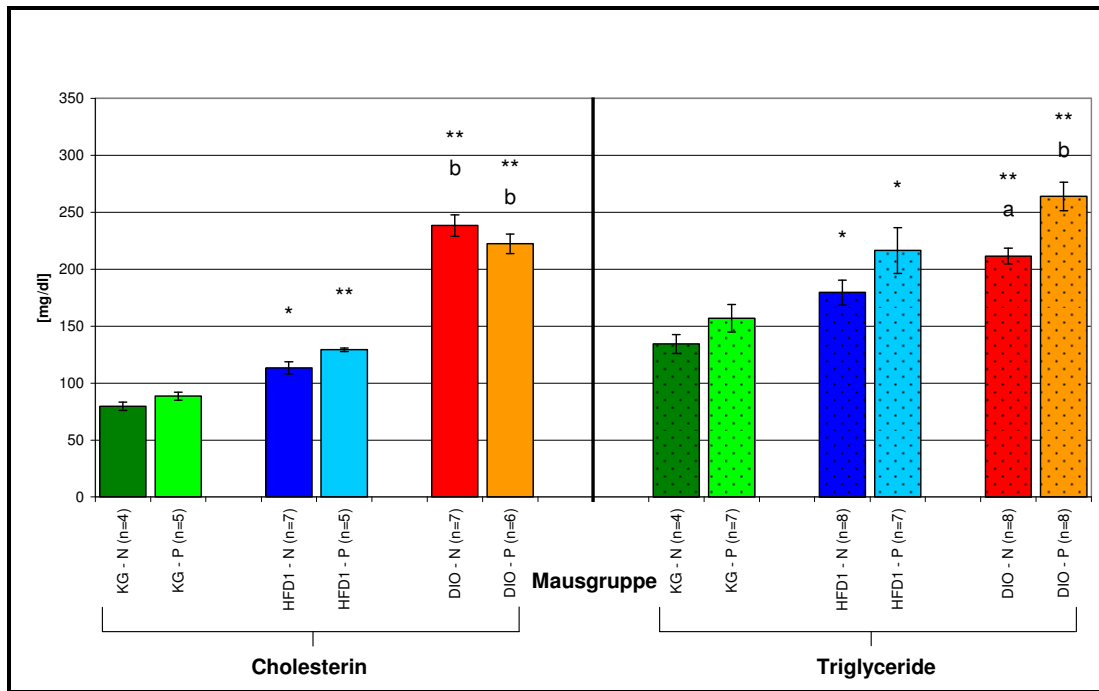


Abb. 9: Cholesterin- [mg/dl] und Triglyceridplasmaspiegel [mg/dl] der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler. KG = Kontrollgruppe; N = Nüchtern; P = Postprandial. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$.

Abbildung 9 stellt die Cholesterin- und Triglyceridkonzentration im Blutplasma der Mäuse dar. Je mehr fettreiche Nahrung die Mäuse erhalten, desto hyperlipidämischer werden sie. So ist der Cholesterin- und Triglyceridgehalt im Blutplasma aller HFD1-Mäuse signifikant höher als bei den Kontrolltieren, aber auch signifikant niedriger als bei den DIO-Mäusen.

3.5 Fettsäurebestimmung

In den nachfolgenden Kapiteln werden die Ergebnisse der gaschromatographischen Analyse der verschiedenen Organe dargestellt und beschrieben. Obwohl jede der sechs Gruppen ursprünglich acht Mäuse beinhaltet, konnte bei der Gewinnung der Proben aus unterschiedlichen Gründen nicht immer die volle Anzahl verwendet werden.

Zusätzlich ist zu erwähnen, dass Ergebnisse bezüglich der Postprandial-Messung nur im Plasma erzielt wurden und eingehen. Alle folgenden Ergebnisse beziehen sich auf die drei Mausgruppen der Nüchtern-Messung,

eine Unterscheidung in Nüchtern und Postprandial entfällt somit ab Abschnitt 3.5.1.2. Einige der Abbildung sind mit zwei y-Achsen versehen. Die linke y-Achse ist immer für die höher konzentrierten, die rechte y-Achse immer für die niedriger konzentrierten Fettsäuren bestimmt.

3.5.1 Plasma

Das Plasma ist ein notwendiges Transportmedium für Fettsäuren. Durch den Blutkreislauf stehen verschiedenste Organe und Gewebe in unmittelbarem Kontakt. Fettsäuren können so zum Beispiel von der Leber ins Fettgewebe transportiert werden. Die Analyse des Plasmas ergibt ein momentanes Bild der Fettsäurestoffwechsellage der Maus und ist daher in Zusammenhang mit den Analysen aus den restlichen Geweben zu betrachten.

3.5.1.1 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Plasma der Mäuse

Um einen Überblick über den Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Plasma zu erhalten, wurde das nach Herzpunktion entnommene Blutplasma analysiert. Zu den unveresterten Gesamtfettsäuren im Plasma zählen die freien Fettsäuren, welche überwiegend an Albumin gebunden sind. Veresterte Fettsäuren sind sowohl in Lipoproteinen als Bestandteile von Membranlipiden (Phospho- und Sphingolipide), als auch in Triacylglycerol- und Cholesterolestern vorzufinden. Die Ergebnisse in Abbildung 10 werden in absoluten Konzentrationen ($\mu\text{g/ml}$) dargestellt.

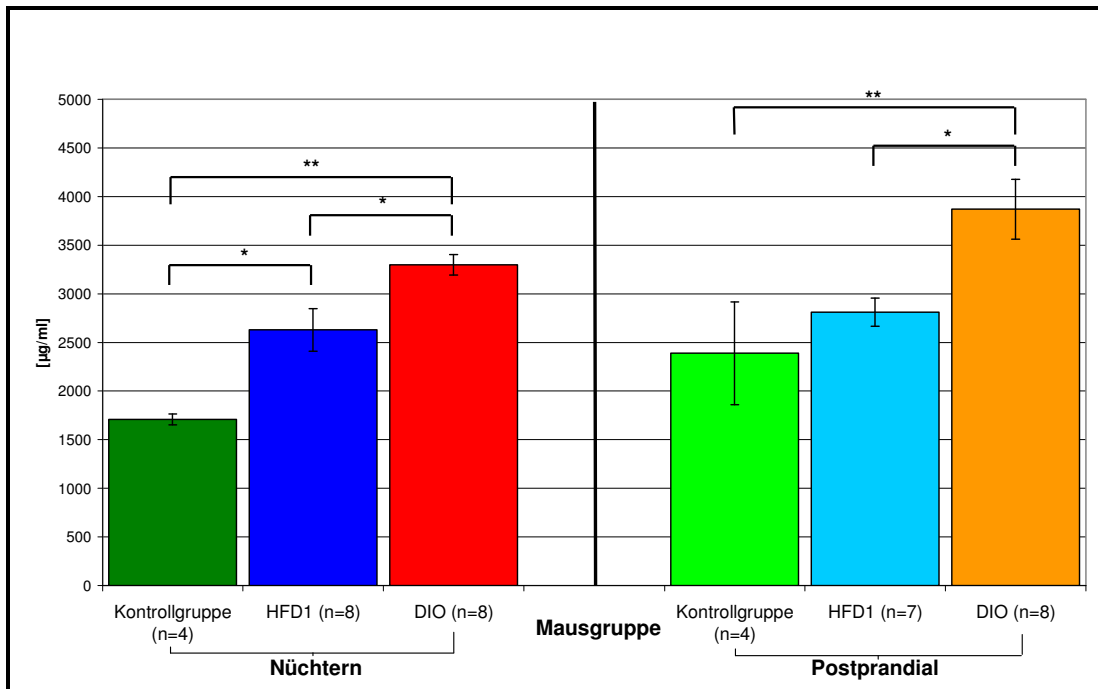


Abb. 10: Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Plasma der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Sowohl bei der Nüchtern- als auch bei der Postprandial-Messung ist eine mit fettreicher Ernährung assoziierte Zunahme des Gesamtgehaltes an Fettsäuren im Plasma zu beobachten. So nimmt der Gesamtgehalt im Plasma von den Kontrolltieren zu den DIO-Mäusen hin erkennbar zu. Lediglich die Kontrollgruppe und die HFD1-Mäuse der Postprandial-Messung unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p=0,35$). Dies hat wahrscheinlich seine Ursache in der geringen Anzahl an Kontrolltieren und der Streuung der Messwerte. Insgesamt findet sich eine Übereinstimmung zwischen den erhöhten Plasmagesamtfettsäuren und den mit fettreicher Nahrung verbundenen ansteigenden Triglyceridplasmawerten (siehe Abbildung 9).

3.5.1.2 Muster der Omega-3-Fettsäuren (α -Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) im Plasma der Mäuse

Nachdem Abbildung 10 einen Überblick über den Gesamtgehalt an Fettsäuren im Plasma gegeben hat, wird in den folgenden Abbildungen auf

das Fettsäuremuster im Plasma eingegangen. So ist in Abbildung 11 das Muster der Omega-3-Fettsäuren dargestellt. Der DHS ist die linke y-Achse, der in geringerer Konzentration vorkommenden α -LS und EPS ist die rechte y-Achse zugeordnet.

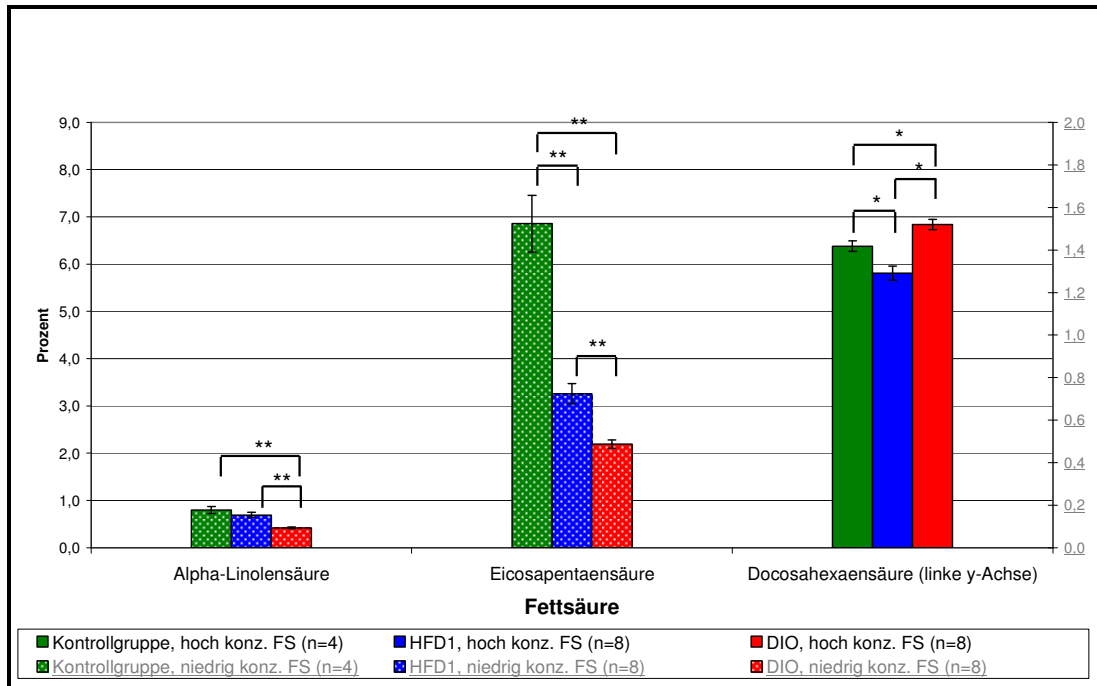


Abb. 11: Prozentuales Muster der ω -3-Fettsäuren (α -Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) im Plasma der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Bei der α -LS und EPS ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen den Mäusen, eine Verringerung zur DIO-Gruppe hin ist zu beobachten. Einzig allein der Unterschied zwischen dem α -Linolensäuregehalt der Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse ist nicht signifikant. Betrachtet man den DHS-Anteil im Plasma der DIO-Mäuse, so fällt auf dass dieser zu den Kontrolltieren und HFD1-Mäusen signifikant erhöht ist. Die HFD1-Mäuse haben den niedrigsten Gehalt an DHS.

3.5.1.3 Muster der Omega-6-Fettsäuren (Linol-, γ -Linolen- und Arachidonsäure) im Plasma der Mäuse

Abbildung 12 stellt das Muster der Omega-6-Fettsäuren im Plasma der Mäuse dar. Die Linol- und AS sind in hoher Konzentration im Plasma vorhanden. Die γ -Linolensäure ist prozentual niedriger vertreten, ihr ist die rechte y-Achse zugeordnet. Wie in Kapitel 1.2.4.2 beschrieben, können die γ -Linolen- und AS durch Desaturaseaktivität aus der LS entstehen.

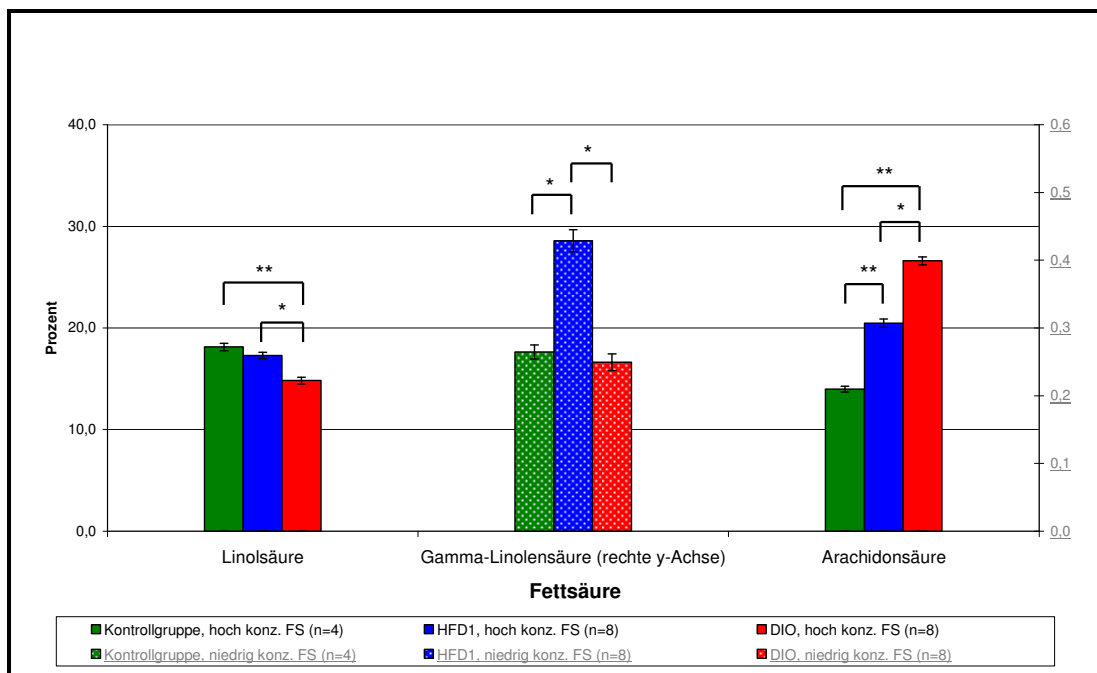


Abb. 12: Prozentuales Muster der ω -6-Fettsäuren (Linol-, γ -Linolensäure und Arachidonsäure) im Plasma der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Der prozentuale Anteil an LS im Plasma der DIO-Mäuse ist signifikant niedriger als in den beiden anderen Mausgruppen. Umgekehrt verhält es sich mit dem prozentualen Anteil an AS im Plasma der DIO-Mäuse. Dieser ist signifikant höher als in den Kontrolltieren und HFD1-Mäusen. Zusätzlich ist der prozentuale AS-Anteil in den HFD1-Mäusen signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Die γ -Linolensäure kommt insbesondere im Plasma der HFD1-Mäuse vor.

3.5.1.4 Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Plasma der Mäuse

Auf die Aktivität der Delta-9-Desaturase wurde bereits in Kapitel 1.2.4.2 eingegangen. Aus gesättigten Fettsäuren entstehen unter Einwirkung der Delta-9-Desaturase unter anderem die in Abbildung 13 dargestellten Fettsäuren. Diese nehmen ebenfalls einen großen Anteil am Gesamtfettsäurepool ein. Der Öl- und Palmitölsäure ist die linke y-Achse, den restlichen Fettsäuren die rechte y-Achse zugeordnet. Die prozentuale Verteilung der gesättigten Fettsäuren im Plasma kann aus Tabelle 8 und 10 (siehe Anhang) entnommen werden.

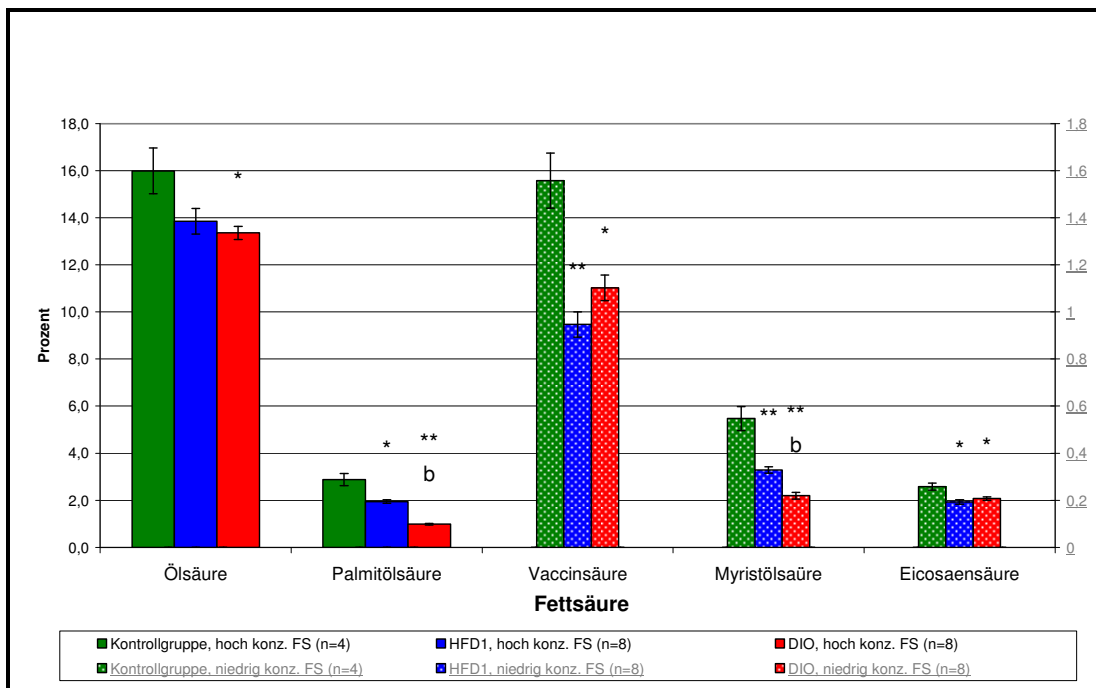


Abb. 13: Prozentuales Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Plasma der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$ T-Test HFD1- o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$.

Der Ölsäureanteil im Plasma der DIO-Mäuse ist im Gegensatz zum Anteil im Plasma der Kontrollgruppe signifikant verringert. Gleiches gilt für die Palmitölsäure, wobei sich im Gegensatz zur Ölsäure die Unterschiede

zwischen den Kontrolltieren und HFD1-Mäusen als auch zwischen den HFD1- und DIO-Mäusen als signifikant erweisen.

Signifikante Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den DIO-Mäusen ergeben sich auch bei der Vaccin-, Myristöl- und Eicosaensäure. Der Anteil dieser Säuren ist im Plasma der DIO-Mäuse ebenfalls geringer, wie zuvor bei der Öl- und Palmitölsäure beschrieben. Die Anteile dieser drei Fettsäuren sind im Plasma der HFD1-Mäuse im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant niedriger.

3.5.2 Lebern

3.5.2.1 *Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Lebergewebe der Mäuse*

Neben dem Plasma wurden auch die Lebern auf ihre Fettsäurezusammensetzung hin untersucht. Die unveresterten Fettsäuren der Leber sind an Fettsäure-bindende Proteine oder Membranen gebunden. Veresterte Fettsäuren sind in Plasmamembranen, intrazellulären Membransystemen und neugebildeten Lipoproteinen vorzufinden. Als größtes Stoffwechselorgan verrichtet die Leber wichtige Funktionen innerhalb des Fettstoffwechsels. Es stellt sich die Frage, wie sich die Fettsäurezusammensetzung im Lebergewebe bei unterschiedlich fettreicher Nahrung verändert. Abbildung 14 gibt zunächst einen Überblick über den Gesamtgehalt an Fettsäuren im Lebergewebe.

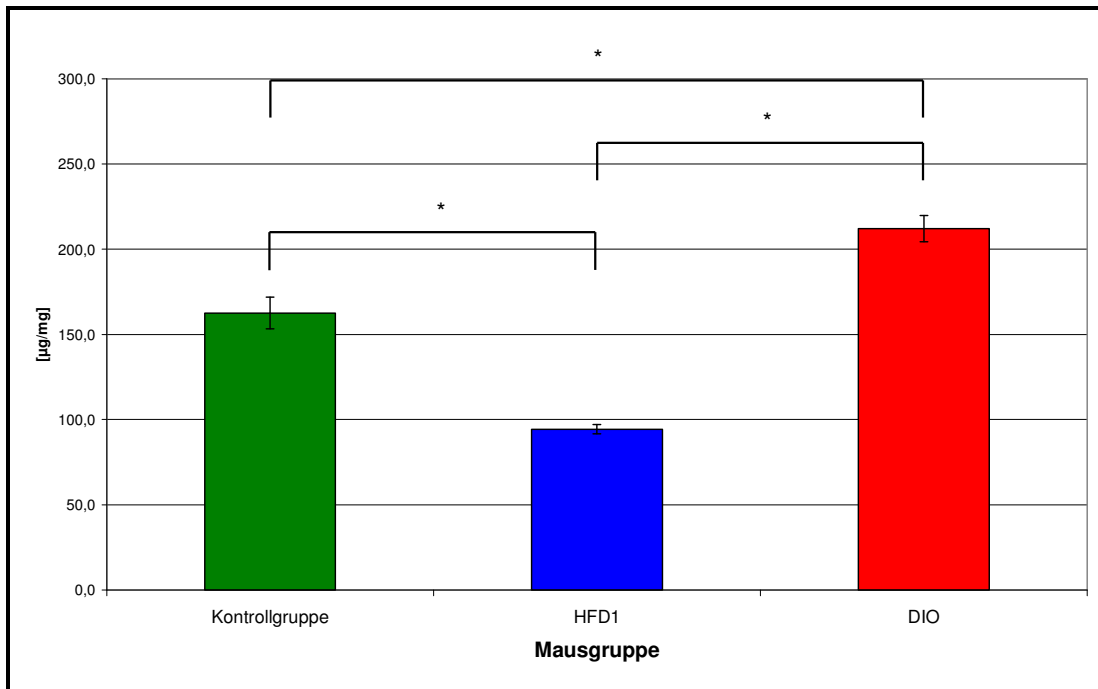


Abb. 14: Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Lebergewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Die ermittelten Daten ergeben einen stark verminderten Gehalt an Gesamtfettsäuren im Lebergewebe der HFD1-Mäuse, welcher sogar unter dem der Kontrollgruppe liegt. Die DIO Mäuse haben den höchsten Gehalt an Gesamtfettsäuren im Lebergewebe.

3.5.2.2 *Muster der Omega-3-Fettsäuren (α -Linolen-, Eicosa-pentaen- und Docosahexaensäure) im Lebergewebe der Mäuse*

Auch für die Leber wurde das Muster der Omega-3-Fettsäuren ermittelt. Ein Vergleich zu Abbildung 11, die das Muster dieser Fettsäuren im Plasma darstellt, ist möglich. Der DHS ist die linke y-Achse, der in geringerer Konzentration vorkommenden α -LS- und EPS ist die rechte y-Achse zugeordnet.

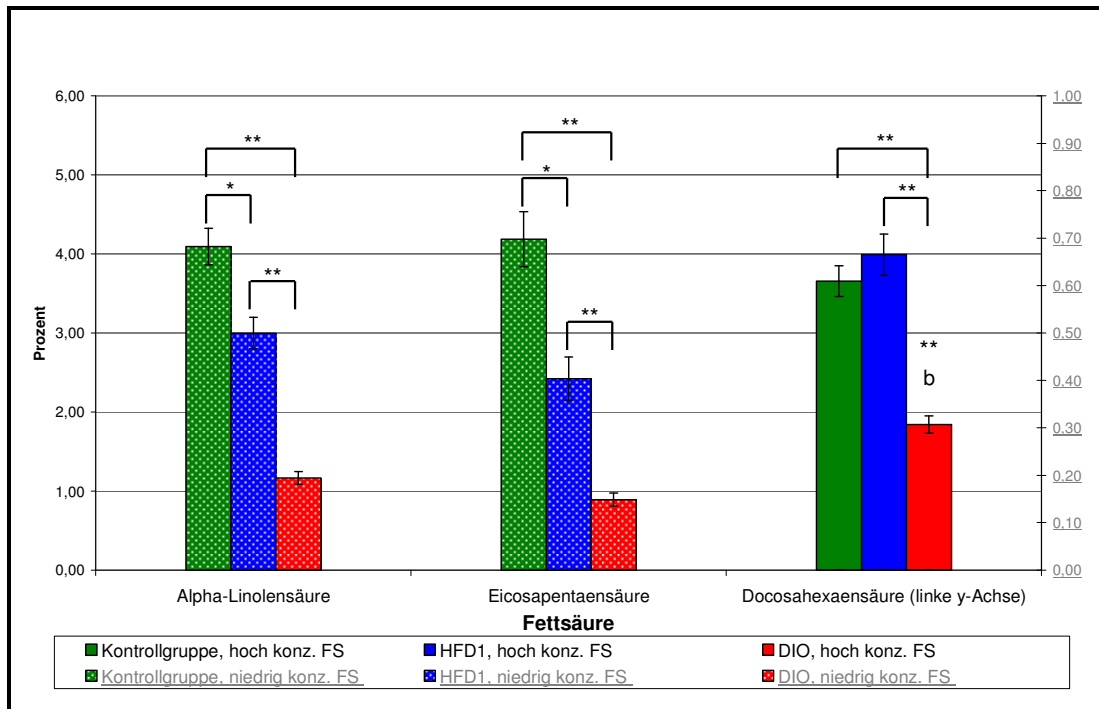


Abb. 15: Prozentuales Muster der ω -3-Fettsäuren (α -Linolen-, Eicosapentaen- und Docosahexaensäure) im Lebergewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Der prozentuale Anteil an α -LS und EPS im Lebergewebe der Mäuse nimmt mit zunehmendem Fettgehalt der Nahrung ab. Betrachtet man den DHS-Anteil im Lebergewebe der DIO-Mäuse, so fällt auf, dass dieser im Vergleich zu den Kontrolltieren und HFD1-Mäusen signifikant niedriger ist. Der Anteil an DHS in den Lebern der Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse unterscheidet sich dagegen nicht voneinander.

3.5.2.3 Muster der Omega-6-Fettsäuren (Linol-, γ -Linolen- und Arachidonsäure) im Lebergewebe der Mäuse

In Abbildung 12 wurde der hohe Anteil an Omega-6-Fettsäuren im Plasma der Mäuse dargestellt. Nach Untersuchung des Lebergewebes hat sich herausgestellt, dass der prozentuale Anteil an Omega-6-Fettsäuren in diesem Organ ebenfalls sehr hoch ist. Die Unterschiede im LS- und AS-Anteil zwischen den einzelnen Mausgruppen stellen sich jedoch wie in Abbildung 16 dargestellt anders als im Plasma dar.

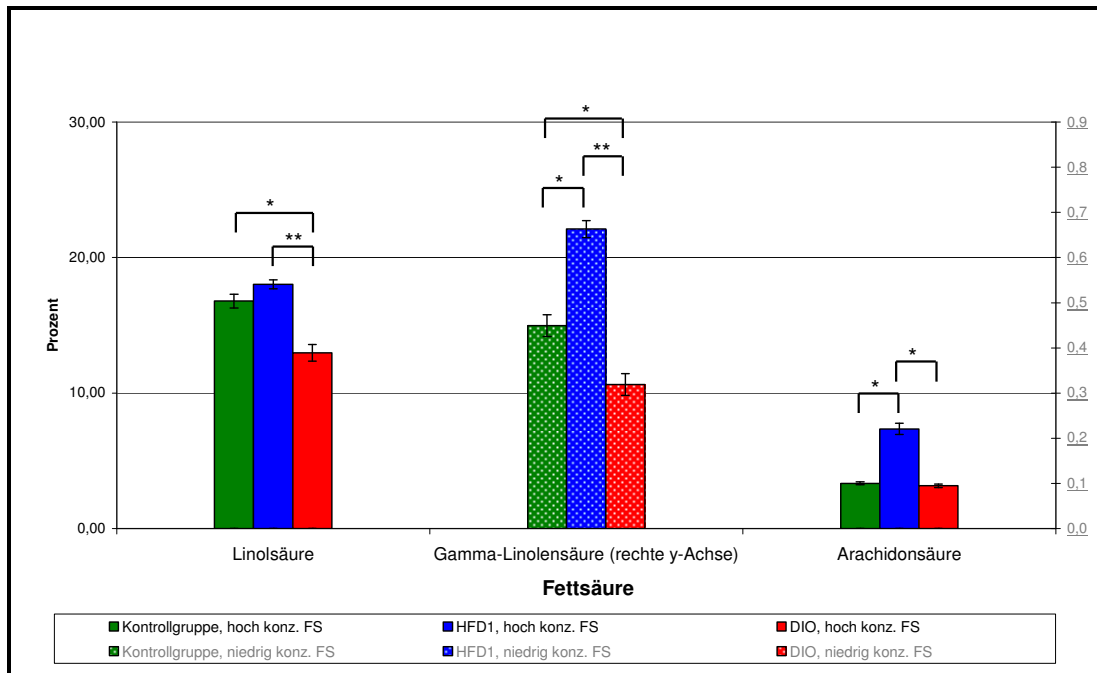


Abb. 16: Prozentuales Muster der ω -6-Fettsäuren (Linol-, Gamma-Linolen- und Arachidonsäure) im Lebergewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Während sich der Gehalt an LS im Lebergewebe der Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse nicht signifikant voneinander unterscheidet ($p=0,061$), ist der Anteil an LS im Lebergewebe der DIO-Mäuse im Vergleich zu den beiden anderen Mausgruppen signifikant niedriger. Betrachtet man die AS, so fällt der hohe Anteil an AS im Lebergewebe der HFD1-Mäuse auf. Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Anteil an AS in den Lebern der Kontrolltiere und DIO-Mäuse. Die γ -Linolensäure kommt insbesondere im Lebergewebe der HFD1-Mäuse in einem höheren Anteil vor, was mit den Plasmawerten übereinstimmt.

3.5.2.4 *Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Lebergewebe der Mäuse*

Gegenstand der Abbildung 17 ist das Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Lebergewebe. Der Öl- und Palmitölsäure ist die linke y-Achse, den restlichen Fettsäuren die rechte y-Achse zugeordnet. Wie in Kapitel 3.5.1.4 besprochen, bilden die gesättigten Fettsäuren die Vorstufen für die Synthese der einfach ungesättigten Fettsäuren. So entstehen zum Beispiel die Ölsäure

aus der Stearinsäure und die Palmitölsäure aus der Palmitinsäure. Eine Übersicht über die gesättigten Fettsäuren im Lebergewebe der Mäuse ist in Abbildung 22 vorzufinden.

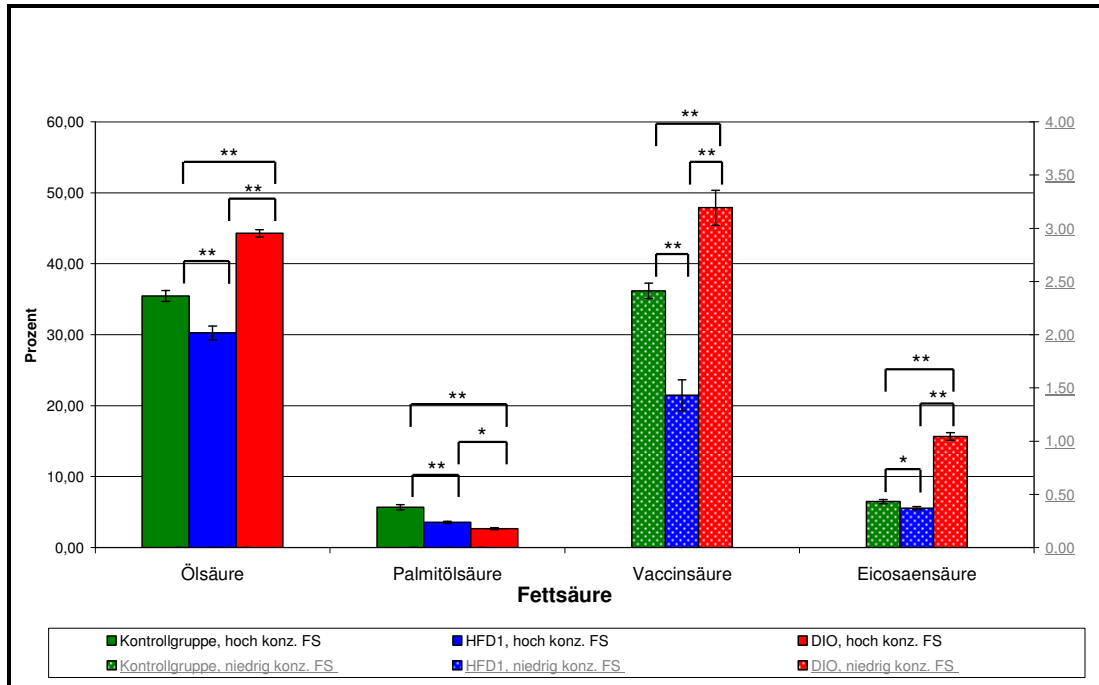


Abb. 17: Prozentuales Muster der Delta-9-Desaturase-Familie im Lebergewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Der Ölsäureanteil im Lebergewebe der DIO-Mäuse ist im Vergleich zum Anteil in den Kontrolltieren und HFD1-Mäusen signifikant vergrößert. Der Ölsäuregehalt in den Lebern der HFD1-Mäuse ist signifikant niedriger als der der Kontrolltiere und DIO-Mäuse. Dieses Bild stimmt nicht mit den ermittelten Ölsäureanteilen im Plasma überein, da die DIO-Mäuse den geringsten Anteil an Ölsäure im Plasma haben (siehe Abbildung 13). Der Anteil an Palmitölsäure im Lebergewebe nimmt mit fettreicher Nahrung ab. Diese Beobachtung stimmt mit den Plasmawerten überein. Der Anteil an Vaccin- und Eicosaensäure verhält sich analog zur Ölsäure.

3.5.3 Subkutanes und epididymales Fettgewebe

3.5.3.1 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im subkutanen- und epididymalen Fettgewebe der Mäuse

Das subkutane und epididymale Fettgewebe war ebenfalls Bestandteil der Fettsäureanalyse, was aufgrund seiner Funktion als Fettspeicher nahe liegt. Die Zusammensetzung der unveresterten und veresterten Fettsäuren unterscheidet sich von der Leber nur in der fehlenden Synthese und damit verminderten Vorkommen von Lipoproteinen. In der folgenden Abbildung 18 ist der Gesamtgehalt an Fettsäuren im subkutanen und epididymalen Fettgewebe der Mäuse dargestellt.

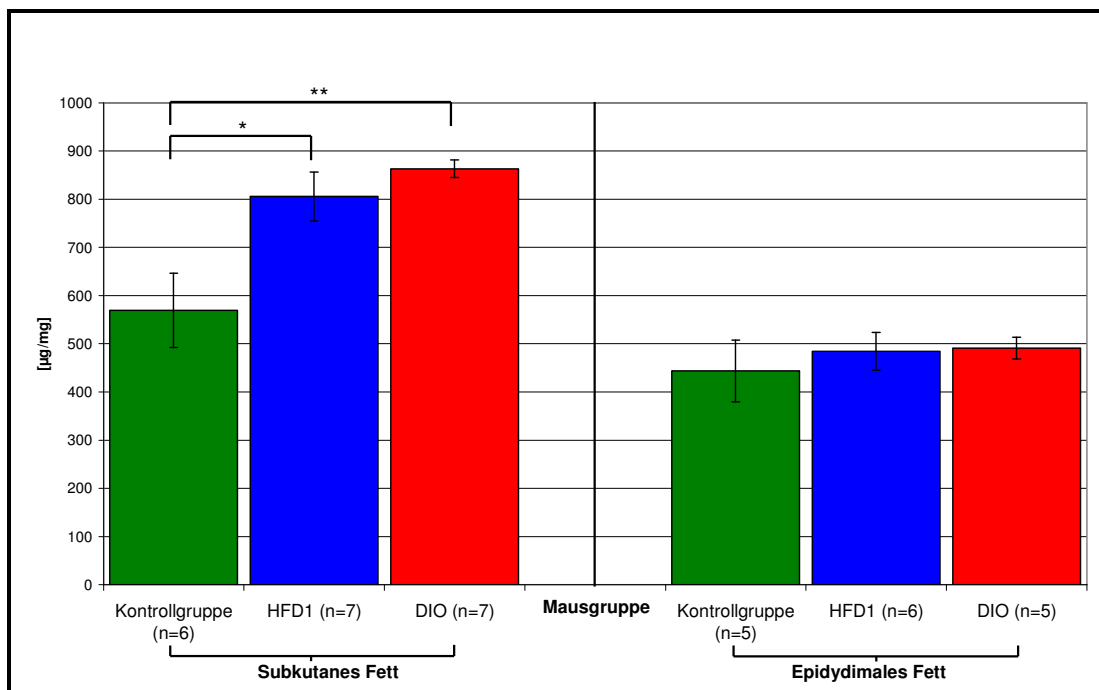


Abb. 18: Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im subkutanen und epididymalen Fettgewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Aus den Messungen geht eindeutig ein stark erhöhter Gesamtgehalt an Fettsäuren im subkutanen Fettgewebe der HFD1- und DIO-Mäuse hervor. Diese Unterschiede sind beim epididymalen Fettgewebe nicht zu erkennen,

die Konzentration an Gesamtfettsäuren pro Milligramm ist bei allen Mausgruppen gleich hoch.

3.5.3.2 *Muster verschiedener Fettsäuren im subkutanen Fettgewebe der Mäuse*

Gegenstand der Abbildung 19 ist eine Auswahl an ungesättigten Fettsäuren. Der Öl- und LS ist die linke y-Achse, den restlichen Fettsäuren die rechte y-Achse zugeordnet.

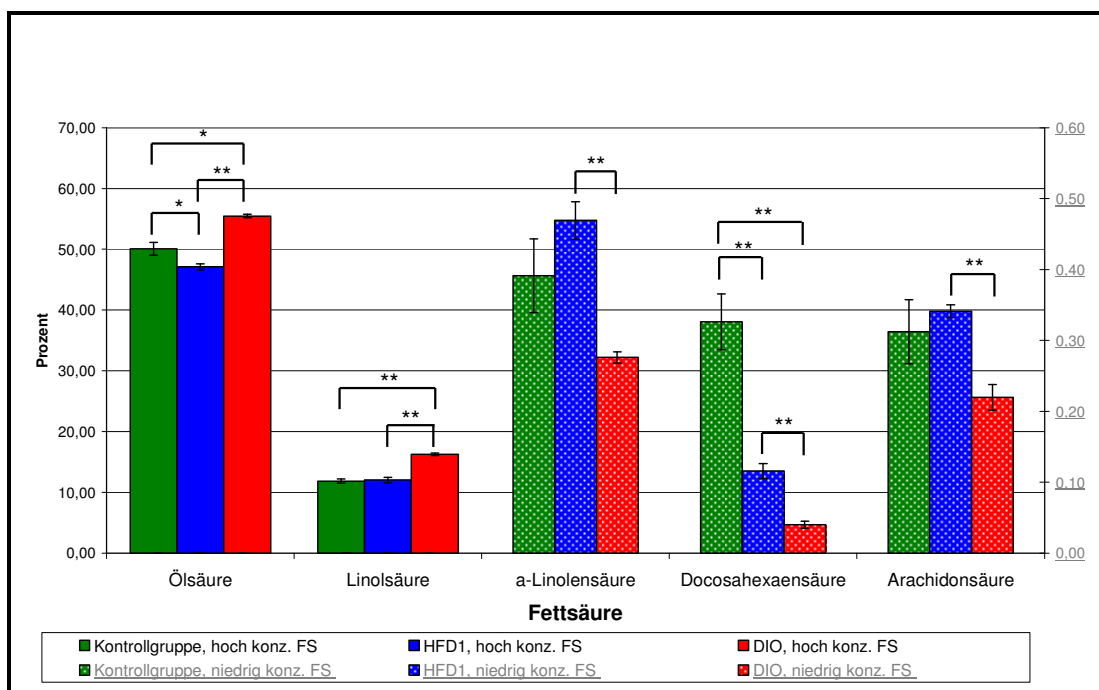


Abb. 19: Prozentuales Fettsäuremuster im subkutanen Fettgewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Der Anteil an Öl- und LS im subkutanen Fettgewebe ist sehr hoch. Bei den DIO-Mäusen ist der Anteil an beiden Fettsäuren in Relation zu den anderen Mausgruppen signifikant erhöht. Die HFD1-Mäuse haben einen geringfügig niedrigeren Ölsäureanteil ($p=0,024$) als die Kontrolltiere. Der Anteil an LS ist gleich hoch ($p=0,788$).

Im Gegensatz zu den anderen Organen sind die α -LS, DHS und AS prozentual weniger stark vertreten. Es wird durch die Abbildung der Eindruck erweckt, dass diese drei Fettsäuren bei den DIO-Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant niedriger sind. Dies trifft jedoch nur für die DHS, nicht jedoch für die α -LS ($p=0,06$) und AS ($p=0,093$) zu. Als Ursache ist hier die Streuung der Messwerte anzunehmen. Eindeutig sind die Unterschiede zwischen den HFD1- und DIO-Mäusen. Alle drei Fettsäuren sind bei den DIO-Mäusen signifikant reduziert. Auffällig ist auch der im Vergleich zu den Kontrolltieren erhöhte α -LS- und niedrige DHS-Anteil der HFD1-Mäuse.

3.5.4 Muskelgewebe

3.5.4.1 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Muskelgewebe der Mäuse

Auch das Muskelgewebe wurde auf seine Fettsäurezusammensetzung hin analysiert.

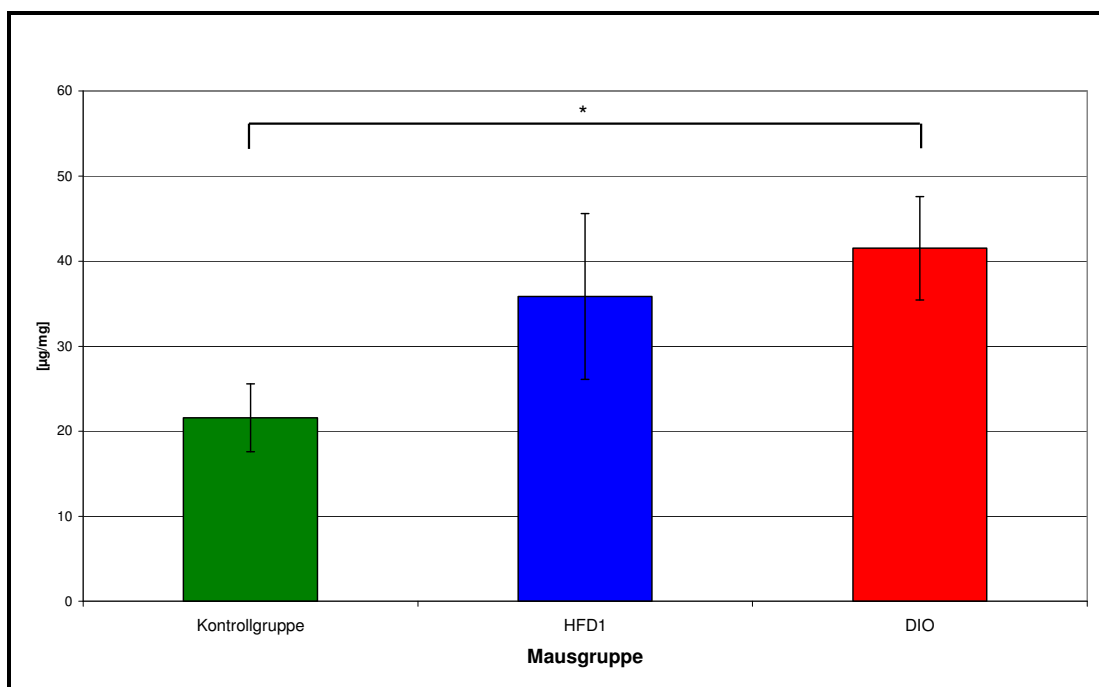


Abb. 20: Gesamtgehalt an un- und veresterten Fettsäuren im Muskelgewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. * = $p < 0,05$.

Im Gegensatz zum Fettgewebe handelt es sich jedoch nicht vorrangig um ein Gewebe der Fettspeicherung. Aufgrund der schwierigen Verarbeitung und der unterschiedlichen Beschaffenheit des Muskelgewebes liegt eine starke Streuung der Messwerte vor. So unterscheiden sich bezüglich des Gesamtgehaltes an Fettsäuren im Muskelgewebe lediglich die DIO-Mäuse von der Kontrollgruppe signifikant voneinander.

3.5.4.2 Fettsäuremuster im Muskelgewebe der Mäuse

Abbildung 21 stellt die prozentuale Verteilung der Öl- und Linolsäure neben der Verteilung der Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren dar. Der Öl-, Linol-, Arachidon- und Docosahexaensäure ist die linke y-Achse, den restlichen Fettsäuren die rechte y-Achse zugeordnet.

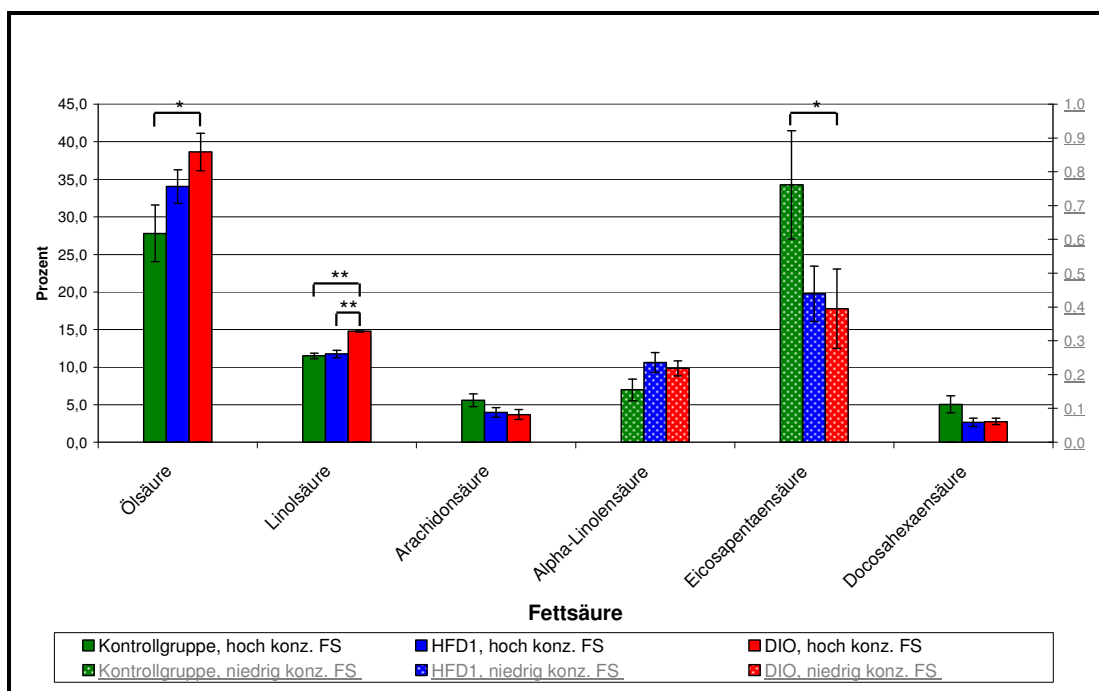


Abb. 21: Prozentuales Fettsäuremuster in den Muskeln der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$.

Die Muskeln der DIO-Mäuse weisen einen höheren Öl- und LS-Anteil als die Mäuse der Kontrollgruppe auf. Die Eicosapentaensäure ist in einem höheren Gehalt in den Muskeln der Kontrolltiere nachzuweisen, wobei die Werte sehr

stark streuen. Bei den restlichen Fettsäuren sind keine signifikanten Unterschiede ermittelt worden.

3.5.5 Gesättigte Fettsäuren

Die prozentuale Verteilung der gesättigten Fettsäuren ähnelt sich in allen Geweben bzw. im Plasma. So sind beispielsweise die Palmitin- und Stearinsäure im Plasma der Nüchtern-Messung im Vergleich zum Plasma der Postprandial-Messung in niedrigerer Konzentration vertreten, prozentual gesehen ergeben sich jedoch keine Unterschiede (siehe Tabelle 7-10). Vor allem im Lebergewebe sind die gesättigten Fettsäuren prozentual stark vertreten. Die folgende Abbildung stellt die prozentuale Verteilung der gesättigten Fettsäuren im Lebergewebe dar, der Palmitin- und Stearinsäure ist die linke y-Achse, den restlichen Fettsäuren die rechte y-Achse zugeordnet.

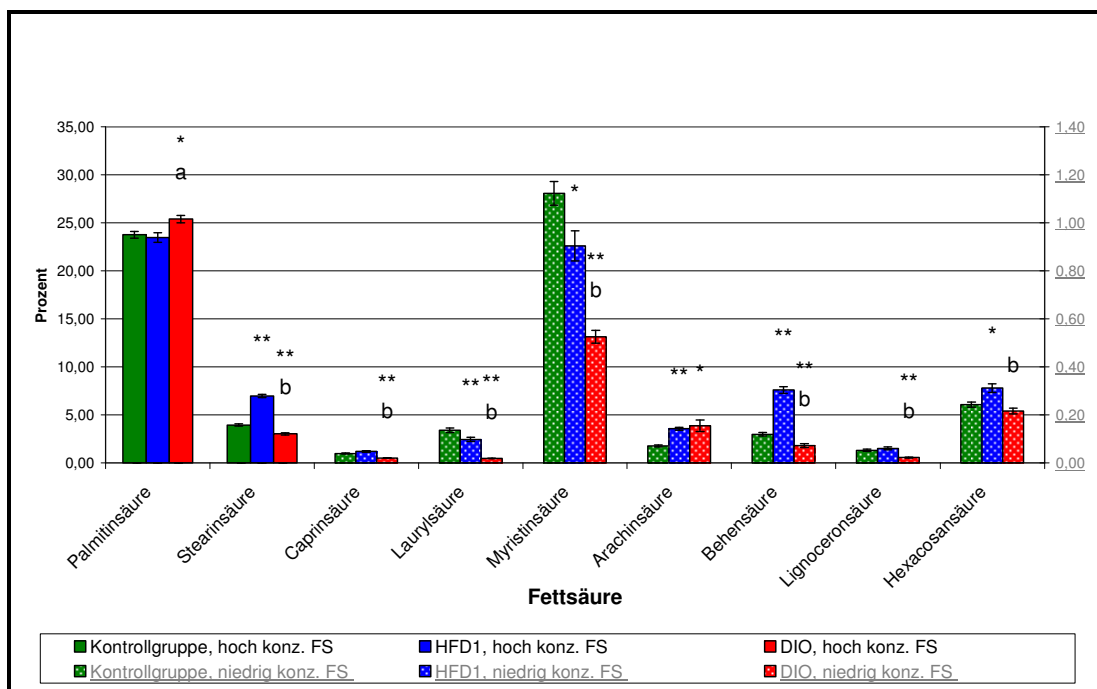


Abb. 22: Prozentuales Muster der gesättigten Fettsäuren im Lebergewebe der Mäuse. Mittelwerte mit Standardfehler, je Gruppe 8 Mäuse. Konz. = konzentriert, FS = Fettsäuren. T-Test HFD1- o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$.

Während bei den DIO-Mäusen im Vergleich zu der Kontrollgruppe einige Fettsäuren wie die Palmitin- und Arachinsäure zunehmen, nehmen alle anderen Fettsäuren bis auf die Hexacosansäure ($p=0,122$) signifikant ab. Die Fettsäureanteile der HFD1-Mäuse sind bis auf die Lauryl- ($p=0,009$) und Myristinsäure ($p=0,016$) signifikant höher als bei der Kontrollgruppe oder zumindest gleich stark vertreten. Auffällig ist auch ein prozentualer Anstieg der Stearinsäure im Lebergewebe der HFD-1-Mäuse. Dieser Anstieg ist auch im epididymalen Fettgewebe der HFD1-Mäuse gemessen worden (siehe Tabelle 15). Interessanterweise ist der prozentuale Anteil an Stearinsäure in den Muskelgeweben aller drei Mausgruppen im Vergleich zu den anderen Organen am höchsten. Unterschiede zwischen den Mausgruppen haben sich dabei nicht ergeben.

4. Diskussion

4.1 Methodendiskussion der Lipidextraktion und gaschromatographischen Fettsäurebestimmung

In der Literatur wurde die Methode der Lipidextraktion anhand Geweben wie der Leber, des Muskels und des Gehirns entwickelt [35, 36, 108]. Die Methode ist technisch sehr gut umsetzbar und gilt als valide. Probleme können sich, wie in Kapitel 4.6.1 beschrieben, bei inhomogenen Geweben ergeben.

Die gaschromatographische Fettsäurebestimmung ist durch die Nutzung eines internen Standards sehr zuverlässig. Beim internen Standard handelt es sich um eine festgelegte Menge an Heptadekansäure, die mindestens einmal vor und einmal nach jeder Sequenz in den Injektor des Gaschromatographen eingespritzt wird. Durch die Verbrennung der Heptadekansäure entsteht eine gleich bleibende Referenz für alle anderen Fettsäuren. Der interne Standard sorgt somit für eine Qualitätssicherung aller Schritte, da zum Beispiel ein Teilverlust der Probe den internen Standard gleichermaßen betrifft.

Problematisch kann lediglich der Nachweis der in geringen Konzentrationen vertretenen Fettsäuren sein, da ihre Signale sehr schwach sind und damit kein eindeutiger Peak erscheint. Die Peaks (siehe Kapitel 2.1.2.2. Abbildung 6) sehen dann vielmehr hügel förmig aus und sind in dieser Form für den Computer oftmals nicht auswertbar. Sie müssen manuell integriert werden, was nicht immer reproduzierbar ist. Eine Überlagerung von Peaks kann ebenfalls vorkommen, was aber bei den in dieser Arbeit untersuchten Fettsäuren nicht zum Problem wurde.

4.2 Diäten zur Fütterung der Mäuse

Als Standardfutter („Chow Diet“) wurde „Purina 5001“ (LabDiet) in Form von Pellets verwendet. Diese Diät wurde im Jahre 1942 speziell für Nagetiere

entwickelt und gilt als Vorreiter der labortechnisch genutzten Nagerdiäten. Als fettreiche Nahrung („HFD“) wurde „Bio-Serv’s Diet #F3282“ (Rodent) gegeben, ebenfalls in Form von Pellets. Auch dieses Nahrungsmittel ist anerkannt und wird in vielen Studien zur Fütterung von Nagern verwendet [123].

4.3 Charakterisierung der Mäuse

Die DIO-Mäuse wurden über einen langen Zeitraum mit einer fettreichen Nahrung gefüttert. Daraus resultierte eine massive Gewichtszunahme. So fiel zum Beispiel bei der Präparation des Muskelgewebes auf, dass die DIO-Mäuse mehr muskelassoziiertes Fettgewebe besaßen als die Mäuse der anderen Gruppen. Diese Beobachtungen stimmen sowohl mit Studien an Menschen als auch an C57BL/6J-Mäusen überein. Ein Anstieg der Insulin-, Cholesterin- und Triglyceridwerte wird ebenfalls berichtet [5, 74, 93, 94]. Eine fettreiche Ernährung kann somit zu einer exzessiven Speicherung von Fettsäuren im Fettspeichergewebe, aber auch in anderen Geweben wie der Leber und dem Muskel führen und ist häufig mit der Entstehung von IR assoziiert [103].

4.4 Plasma und Lebern der Mäuse

4.4.1 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im Plasma der Mäuse

Die Fütterung der Mäuse mit einer fettreichen Diät geht mit einer Zunahme des Fettgewebes und Veränderung des Fettsäuremusters einher. Wie nicht anders erwartet, nimmt auch der Gesamtgehalt an Fettsäuren im Plasma der Kontrollgruppe über die HFD1- zu den DIO-Mäusen durch die fettreiche Nahrung zu (siehe Abbildung 10). Dies betrifft sowohl die Nüchtern- als auch die Postprandial-Messung. Der höhere Gehalt an Gesamtfettsäuren im Plasma der Postprandial-Messung gegenüber der Nüchtern-Messung ist dadurch zu erklären, dass die Mäuse der Postprandial-Messung für vier Stunden vor der Blut- und Organentnahme freien Zugang zur Nahrung

erhalten haben (siehe 3.1.1). Mit der Nahrung aufgenommene Fettsäuren gelangen erstmals ca. 1-2 Stunden nach Nahrungsaufnahme über den Influx von Chylomikronen in das systemische Blut. Kurzkettige Fettsäuren gelangen Albumin-gebunden direkt von der Intestinalzelle in das Portalblut und stehen den Geweben als Energiequelle zur Verfügung [9, 75].

Die Zunahme der Gesamtfettsäuren im Plasma der HFD1-Mäuse im Vergleich zu den Kontrolltieren (Nüchtern- und Postprandial-Messung) ist eher auf die exogene Fettsäurezufuhr als auf eine endogene Fettsäuresynthese zurückzuführen. Es kommt bei den HFD1-Mäusen der Nüchtern-Messung im Vergleich zur Kontrollgruppe zwar zu einem signifikanten Anstieg des Insulinspiegels im Plasma (siehe Abbildung 8), was die de novo Synthese von Fettsäuren durch die Fettsäuresynthase im Fett- und Lebergewebe erhöhen kann [75, 101, 124], gleichzeitig ist jedoch bekannt, dass eine fettreiche Ernährung die de novo Synthese mehrfach ungesättigter Fettsäuren trotz eines erhöhten Insulinspiegels unterdrückt [21, 75, 101].

Doch warum ist der Gesamtgehalt an Fettsäuren im Plasma der DIO-Mäuse höher als im Plasma der HFD1-Mäuse? Analysen in dem Gesamtprojekt haben ergeben, dass eine Erhöhung des Gehalts an Lipoproteinen im Plasma der DIO-Mäuse dafür verantwortlich ist (Daten nicht gezeigt). Das Fettgewebe der DIO-Mäuse ist insulinresistent, eine ausreichende Unterdrückung der Lipolyse im Fettgewebe (Hormonsensitive Lipase) findet nicht statt. Daraus resultiert ein erhöhter Gehalt an freien Fettsäuren im Plasma der Mäuse. Als Reaktion darauf findet eine erhöhte Lipogenese in der Leber statt, was zum Anstieg des VLDL im Plasma beiträgt [10]. Die verringerte Clearance der Lipoproteine aufgrund reduzierter Lipoproteinlipase erhöht ebenfalls den Anteil an Lipoproteinen (VLDL und Chylomykronen) im Plasma.

Je mehr freie Fettsäuren im Plasma vorhanden sind, desto mehr wird die Entstehung einer IR gefördert [97, 118]. In Versuchen an Menschen konnte über eine Infusion von freien Fettsäuren in die Blutlaufbahn oder in Gewebe

eine IR ausgelöst werden [8, 66]. Eine Theorie besagt, dass die freien Fettsäuren die IR durch Inhibition des Glucosetransport auslösen [31]. Ebenfalls wird Leptin [89, 104] und der hemmende Einfluss des TNF- α diskutiert, welches bei Übergewicht verstärkt im Fettgewebe synthetisiert wird und den Insulinrezeptor so phosphoryliert, dass die Glucoseaufnahme in den Muskel gestört ist [59, 60].

4.4.2 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren in den Lebern der Mäuse

Bei der Analyse des Gesamtgehaltes an Fettsäuren in den Lebern der Mäuse hat sich ergeben, dass dieser bei den DIO-Tieren am höchsten ist (siehe Abbildung 14). In vielen Studien, zum Beispiel der von Ryysy et al. [100], wurde nachgewiesen, dass Fettleibigkeit und Hyperinsulinämie mit erhöhten Leberfettwerten einhergehen. Diese Beobachtung lässt sich auch auf die DIO-Mäuse dieser Studie übertragen, welche eine signifikant erhöhte Konzentration an Fettsäuren in den Lebern haben.

Überraschenderweise weisen die HFD1-Mäuse einen im Vergleich zu den anderen Mausgruppen stark verminderten Gehalt an Gesamtfettsäuren im Lebergewebe auf. Wieso ist die Konzentration an Gesamtfettsäuren in den Lebern der HFD1-Mäuse niedriger als in denen der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 14), obwohl sie für eine Woche vor der Organentnahme fettreich ernährt wurden? Eine Erklärung ist, dass die HFD1-Mäuse verbleibendes Potential im Hinblick auf die Speicherkapazität im Fettgewebe besitzen. Da sie noch nicht wirklich insulinresistent sind (siehe Insulinspiegel Abbildung 8), werden die Fettsäuren, die über die fettreiche Nahrung aufgenommen werden, vermutlich effektiv und direkt in die peripheren Gewebe transportiert und dort gespeichert (siehe Kapitel 4.5 und 4.6). Eine weitere Erklärung ist, dass bei der HFD1-Gruppe die Sekretion von VLDL aus der Leber erhöht ist und daher Fettsäuren aus der Leber über die Blutlaufbahn zu den extrahepatischen Geweben transportiert werden, was auch den etwas erhöhten Gesamtfettsäurespiegel im Plasma erklären könnte.

4.4.3 Muster der Omega-3-Fettsäuren (α -Linolen-, Eicosa-pentaen- und Docosahexaensäure) in den Lebern und im Plasma der Mäuse

Die ω -3-FS sind eine bedeutende Gruppe der ungesättigten Fettsäuren. In den Abbildungen 11 und 15 wurde das Muster der ω -3-FS im Plasma und in den Lebern der Mäuse dargestellt. Sowohl im Plasma als auch im Lebergewebe wurde ein kontinuierlicher Abfall der α -LS- und EPS-Konzentrationen von der Kontrollgruppe zu den DIO-Mäusen hin gemessen. Lediglich die DHS-Konzentration im Plasma (siehe Abbildung 11) nimmt bei den DIO-Mäusen im Vergleich zur Kontrollgruppe geringfügig zu.

Wie in Tabelle 5 dargestellt, enthält die fettreiche Nahrung im Gegensatz zum Standardfutter weniger ω -3-Fettsäuren. Der Gehalt an α -LS sinkt in der fettreichen Nahrung pro Milligramm um die Hälfte ab. Der Anteil an EPS, ebenfalls eine aus α -LS synthetisierte ω -3-Fettsäure, ist im Vergleich zum Standardfutter um 30 Prozent weniger vertreten. Die DHS ist im fettreichen Futter in geringfügig höherer Konzentration vertreten. Gleichzeitig nimmt, wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist, der Anteil an ω -6-Fettsäuren, das heißt insbesondere an LS, in der fettreichen Nahrung zu. Das Verhältnis zwischen ω -6- und ω -3-Fettsäuren wird durch diese veränderte Nahrungszusammensetzung zugunsten der ω -6-Fettsäuren verschoben. Der geringere Anteil an ω -3-FS in der fettreichen Nahrung erklärt den Abfall dieser Fettsäuren in den Lebern und im Plasma der HFD1- und DIO-Mäuse. Die erhöhte Konzentration an DHS im Plasma der DIO-Mäuse ist wahrscheinlich auf den erhöhten Gehalt an DHS in der fettreichen Nahrung zurückzuführen.

Wijendran und Hayes haben im Jahr 2004 ein für den Menschen ideales Verhältnis zwischen ω -6- und ω -3-Fettsäuren, wie es in der Nahrung enthalten sein sollte, postuliert. Dieses Verhältnis liegt bei \sim 6:1. Doch wieso ist ein bestimmtes Verhältnis zwischen den ω -6- und ω -3-Fettsäuren so wichtig? Was könnte diese drastische Abnahme an ω -3-Fettsäuren für die Mäuse die mit der fettreichen Nahrung gefüttert werden bedeuten? Die LS ist

die am häufigsten in Phospholipidmembranen und Lipoproteine eingebaute mehrfach ungesättigte Fettsäure. Die Rolle der aus ihr entstehenden AS als Eicosanoidvorstufe wurde in den vorhergehenden Kapiteln eingehend erläutert. Die α -LS ist Substrat für die Bildung von EPS und DHS, welche ebenfalls Eicosanoidvorstufen sind. Die aus EPS und DHS gebildeten Eicosanoide haben jedoch eine antagonistische Wirkung zu den Eicosanoiden der AS.

LS und α -LS schützen vor KHK, auch atherosklerotische Herzerkrankung genannt [30, 134]. Die gesundheitsfördernde Wirkung der LS liegt in der Senkung des totalen Plasmacholesterols und des Low-Density-Lipoprotein-Cholesterins (LDL-C) [54, 84]. Zudem wird die Aktivität des hepatischen LDL-Rezeptors gesteigert, was zu einer Senkung des Plasma-LDL führt [136]. Die gesundheitsfördernde Wirkung der α -LS entfaltet sich zum einen durch die im Vergleich zur LS etwas geringeren Senkung des LDL-C und verminderten Aktivierung des hepatischen LDL-Rezeptors [134], zum anderen auch durch eine Senkung des VLDL [9, 102, 132]. Die hauptsächliche Wirkung entfaltet die α -LS jedoch über die antagonistische Eigenschaften der aus ihr über EPS und DHS metabolisierten Eicosanoide [54]. Schon im Jahre 1956 fiel Sinclair eine wesentlich geringere Inzidenz der koronaren Herzkrankheit bei Eskimos auf, bedingt durch eine stark fischöhlhaltige und damit ω -3-FS-reiche Ernährung. Diverse Eigenschaften der aus EPS und DHS synthetisierten Eicosanoide schützen vor KHK. Zu diesen zählen eine antinflammatorische [17, 126], Gefäßcompliance erhöhende [83, 91], vermindert chemotaktische und eine reduziert proaggregatorische Thrombozytenwirkung [9, 79, 110]. Ebenso schützen sie vor ventrikulären Arrhythmien [22, 71, 106, 113] und vor Herzinfarkt bei an KHK erkrankten Patienten [16, 61, 113]. Einige Studien berichten zusätzlich über eine vor IR schützende Wirkung der ω -3-Fettsäuren [112, 120].

LS und α -LS konkurrieren um dieselben Enzyme (Δ -5- und Δ -6-Desaturase) zur Synthese von AS bzw. EPS und DHS [111]. α -LS wird von den Enzymen bevorzugt desaturiert, eine Zunahme an α -LS in der Nahrung ist somit auch schon eine kompetitive Hemmung der Synthese von AS und ihrer

Eicosanoide [9, 111]. Des Weiteren konkurrieren AS, EPS und DHS um die Cyclo- und Lipoxygenase, wobei auch hier EPS und DHS als Substrat bevorzugt werden. Die Synthese von EPS und DHS darf jedoch nicht überbewertet werden, da sie bei Menschen jedenfalls sehr energieaufwändig ist und langsam abläuft [9, 88]. Die Steigerung der Konzentration dieser Fettsäuren über die Nahrung ist mindestens ebenso wichtig. Da bei Wegfall der α -LS die Synthese von LS zu AS verstärkt wird und insgesamt auch weniger Eicosanoide aus EPS und DHS gebildet werden können, überwiegen die aus AS metabolisierten proinflammatorischen Eicosanoide.

4.4.4 Muster der Omega-6-Fettsäuren (Linol-, γ -Linolen- und Arachidonsäure) in den Lebern und im Plasma der Mäuse

Auf die Bedeutung der ω -6-Fettsäuren für den eukaryotischen Organismus wurde in Kapitel 1.2.4.2 eingehend eingegangen. Die Analysen des Lebergewebes haben ergeben, dass der Anteil an LS im Lebergewebe der DIO-Mäuse im Vergleich zu den beiden anderen Mausgruppen signifikant niedriger ist. Der Gehalt an LS im Lebergewebe der Kontrollgruppe und in dem der HFD1-Mäuse unterscheidet sich dagegen nicht signifikant voneinander. Betrachtet man die AS, so fällt der hohe Anteil an AS im Lebergewebe der HFD1-Mäuse auf. Es gibt keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Anteil an AS in den Lebern der Kontrolltiere und DIO-Mäuse. Der Anteil an γ -Linolensäure ist im Plasma und Lebergewebe der HFD1-Mäuse erhöht.

Der im Vergleich zu den anderen Mausgruppen signifikant erhöhte AS-Anteil im Lebergewebe der HFD1-Mäuse könnte mit einer zunehmenden Synthese von AS aus LS zusammenhängen. In der fettreichen Nahrung ist pro Milligramm ca. zweimal soviel LS enthalten wie im Standardfutter (siehe Tabelle 5). Fraglich ist, ob es zu einer gesteigerten AS-Synthese aufgrund einer höheren LS-Zufuhr kommt [134], oder ob andere Faktoren ausschlaggebend sind. Tatsache ist, dass die LS-Konzentration im Lebergewebe der HFD1-Mäuse trotz der vermehrten Aufnahme durch die einwöchige fettreiche Ernährung genauso hoch ist wie im Lebergewebe der

Kontrollgruppe. Dies könnte mit dem gesteigerten Umsatz von LS zu AS zusammenhängen. Ein gesteigerter Umsatz von LS zu AS geht nach zweifacher enzymatischer Dehydrierung über die Zwischenstufe der γ -Linolensäure, welche ebenfalls im Lebergewebe der HFD1-Mäuse im Vergleich zu den anderen beiden Mausgruppen signifikant erhöht ist [115, 135].

Ein Faktor der die AS-Synthese fördert, ist eine verringerte α -LS-Zufuhr. Da die α -LS mit der LS um das Enzym Δ -6-Desaturase konkurrieren und erstere auch bevorzugt desaturiert wird, könnte der geringere Anteil an α -LS in der fettreichen Nahrung ein Grund für den vermehrten LS-Umsatz und die damit verbundene erhöhte AS-Produktion sein [137]. Ebenfalls hat sich bei Studien an Mäusen und Meerschweinchen herausgestellt, dass die Zufuhr von AS sowohl die Synthese derselben Fettsäure im Gewebe (unter anderem im Lebergewebe) als auch die Eicosanoidsynthese fördernd beeinflussen kann [1, 133]. Inwieweit dieser Effekt bei dem geringen aber trotzdem höheren Anteil an AS in der fettreichen Nahrung zum Tragen kommt, ist fraglich.

Der LS-Anteil in den Lebern der DIO-Mäuse ist signifikant geringer als in den Lebern der Kontrollgruppe und HFD1-Mäuse. Gleichzeitig ist der AS-Anteil in der Leber jedoch nicht signifikant höher als der der Kontrollgruppe (siehe Abbildung 16). Betrachtet man aber den im Vergleich zu den anderen Mausgruppen signifikant erhöhten AS-Anteil im Plasma der DIO-Mäuse (siehe Abbildung 12), könnte man eine verstärkte Abgabe der AS an das Plasma vermuten. Gleichzeitig nimmt der eigentlich höhere LS-Anteil in der Leber aufgrund der hohen AS-Syntheserate ab. Der AS-Pool der Leber balanciert sich am schnellsten mit dem AS-Pool des Plasmas aus [137].

AS ist wie oben erwähnt das Substrat für die Synthese von Eicosanoiden und kann beim Menschen in nahezu jedem Gewebe des Körpers gebildet werden [135]. Über die Blutlaufbahn kann die AS in die Phospholipidmembran der Endothel- und Gewebszellen eingebaut und dann der Eicosanoidsynthese zur Verfügung gestellt werden. Je höher die Konzentration der AS im Plasma ist, desto höher ist die "turnover rate" (vor allem bei körperlicher Belastung)

und damit auch der Einbau der AS in die Endothelzellen [47]. In vitro und in vivo wurde gezeigt, dass die Eicosanoidbildung direkt von der zur Verfügung stehenden AS abhängt. Je mehr AS sich im System befindet, desto größer ist die gebildete Menge an Eicosanoiden [9]. Es ist bekannt, dass die Eicosanoide der AS eine überwiegend proinflammatorische Wirkung haben [9, 15, 56].

Die proinflammatorische Wirkung spielt eine große Rolle bei zahlreichen Erkrankungen wie Alzheimererkrankung, Arthritis [135], Herz-Kreislaufkrankungen [55, 87], Krebs [33] und Parodontitis [128]. Entzündliche Prozesse tragen auch zur Entstehung der IR bei. So stimuliert das proinflammatorische Zytokin TNF- α die Lipolyse im Fettgewebe und inhibiert den Insulinsignalweg [58, 59, 122]. IL-6 erhöht die hepatische Triglyceridsynthese [20].

4.4.5 Muster der Delta-9-Desaturase-Familie in den Lebern und im Plasma der Mäuse

Eine weitere wichtige Gruppe unter den einfach ungesättigten Fettsäuren ist die Delta-9-Desaturase-Familie. Hauptvertreter dieser Familie sind die Öl- und Palmitölsäure, welche in einem hohen prozentualen Anteil im Plasma und Lebergewebe der Mäuse vorhanden sind. Wie in Kapitel 3.5.2.3 beschrieben und in Abbildung 17 dargestellt, nimmt der Anteil der Öl-, Vaccin- und Eicosaensäure im Lebergewebe der DIO-Mäuse in Relation zu den Kontrolltieren und HFD1-Mäusen signifikant zu. Zusätzlich ist in den Lebern der HFD1-Mäuse eine signifikant niedrigere Konzentration an Öl- und Vaccinsäure als in den Lebern der Kontrollgruppe vorzufinden.

Einfach ungesättigte Fettsäuren werden bei Säugetieren mittels direkter oxidativer Desaturierung aus gesättigten Fettsäuren gebildet. Hierfür ist die Δ -9-Desaturase-Aktivität in der Leber, in der Brustdrüse, im Gehirn, Hoden und Fettgewebe verantwortlich [25]. Die Aktivität der Δ -9-Desaturase ist zum einen von der Nahrung abhängig, zum anderen findet auch eine hormonelle Steuerung statt. Ist die Nahrung mehr kohlenhydrat- als fettreich, so ist die

Syntheserate an Ölsäure sehr hoch [25]. Aus einer tierexperimentellen Studie von Fukuchi et al. (2004) an Mäusen ist hervorgegangen, dass eine Zunahme des Blutglucose- und Insulinspiegels mit einem Anstieg an einfach ungesättigten und einer Abnahme an mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Plasma und allen Geweben assoziiert ist [38]. Diese Ergebnisse stimmen mit anderen Studien überein [18, 130] und bestätigen den in Kapitel 4.4.4 beschriebenen Abfall der LS-Konzentration in den Lebern und im Plasma der Mäuse. Zusätzlich wurde ein erhöhter Plasmatriglyceridspiegel und eine Vermehrung des subkutanen und viszeralen Fettgewebes beobachtet.

Betrachtet man die Ölsäurekonzentration in den Lebern der Mäuse (siehe Abbildung 17), so könnte man den Unterschied im Ölsäuregehalt der Lebern zwischen der Kontrollgruppe und den HFD1-Mäusen durch die unterschiedliche Nahrungszufuhr erklären. Während eine kohlenhydrat- und proteinreiche Nahrung einen stimulierenden Einfluss auf die Δ -9-Desaturase-Aktivität hat, wirkt sich fettreiche Nahrung eher hemmend auf das Enzym aus [25]. So würde sich bei den HFD1-Mäusen die Umstellung auf eine fettreiche Nahrung eine Woche vor der Organentnahme in Form einer verminderten Synthese der Ölsäure in den Lebern und im Fettgewebe, das heißt in den Organen der Ölsäuresynthese, trotz erhöhtem Insulinspiegel (siehe Abbildung 8), bemerkbar machen. Tatsächlich ist, wie in Kapitel 3.5.2.3 erläutert, ein signifikanter Rückgang des Ölsäuregehalts zu erkennen. Denkbar ist auch eine verstärkte Sekretion der Ölsäure aus der Leber aufgrund der Nahrungsumstellung in der letzten Lebenswoche der HFD1-Mäuse.

Der signifikant ansteigende Ölsäuregehalt in den Lebern, Muskeln und Fettgewebe der DIO-Mäuse resultiert wahrscheinlich aus dem erhöhten Insulinspiegel (siehe Abbildung 8), welcher bekanntermaßen hepatische Lipogenese auch in der IR fördert. Der Anteil an Ölsäure im Plasma der DIO-Mäuse fällt im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant ab (siehe Abbildung 13). Dies könnte mit der vermehrten Speicherung von Ölsäure in den verschiedenen Geweben der DIO-Mäuse zusammenhängen.

4.5 Fettgewebe der Mäuse

4.5.1 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren im subkutanen- und epididymalen Fettgewebe der Mäuse

Das subkutane und epididymale Fettgewebe weisen eine hohe Konzentration an Fettsäuren auf. Dieses Ergebnis ist nicht überraschend, da das Fettgewebe unter anderem der Speicherung von Fettsäuren dient. Wie in Abbildung 18 dargestellt, ist im subkutanen Fett der HFD1- und DIO-Mäuse ein signifikanter Anstieg der Gesamtfettsäurekonzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe ermittelt worden. Die Gesamtfettsäurekonzentration pro Milligramm subkutanen Fettgewebes der HFD1- und DIO-Gruppe ist gleich hoch, obwohl die DIO-Mäuse sich über einen viel längeren Zeitraum fettreich ernährt haben. Das könnte man darauf zurückführen, dass sowohl die Aufnahmekapazität der Adipozyten der HFD1- als auch der DIO-Mäuse erschöpft ist. Jegliche weitere Fettaufnahme wäre mit Hyperplasie, das heißt mit der Entstehung weiterer Adipozyten, verbunden [9]. Eine Vergrößerung einzelner Adipozyten, die sogenannte Hypertrophie, würde dann nur noch die neu entstehenden Fettzellen betreffen. Inwieweit dies der Fall ist und welche Mechanismen dahinter stehen, kann mit dieser Studie nicht beantwortet werden.

Im epididymalen Fettgewebe ergeben sich bezüglich der Gesamtfettsäurekonzentration (siehe Abbildung 18) keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Mausgruppen. Beim epididymalen Fett der Maus handelt es sich um abdominales Fettgewebe. Die fehlenden Unterschiede zwischen den verschiedenen Mausgruppen können nicht erklärt werden.

4.5.2 Muster verschiedener Fettsäuren im subkutanen Fettgewebe der Mäuse

Das Fettgewebe weist eine hohe Δ -9-Desaturase-Aktivität auf [25]. Die Gründe für unterschiedliche Konzentrationen an Ölsäure (siehe Abbildung

19) im subkutanen Fettgewebe der Mausgruppen sind in Kapitel 4.4.5 aufgeführt.

Nach Cooks Vergleich verschiedener eukaryotischer Organe im Hinblick auf ihre prozentuale Fettsäurezusammensetzung beträgt der totale Anteil an ω -6-Fettsäuren in der Leber 20-24 Prozent und im Fettgewebe 4-22 Prozent [25]. Der totale Anteil an ω -3-Fettsäuren beträgt nach Cook in der Leber 6-10 Prozent und im Fettgewebe 1-3 Prozent [25]. Die Werte der Kontrollgruppe (siehe Anhang Tabellen 12, 16 bzw. Abbildung 15, 16, 19) stimmen mit den Ergebnissen von Cook überein. Der Anteil an DHS und AS im subkutanen Fettgewebe der DIO-Mäuse ist im Vergleich zu den HFD1-Mäusen überproportional gesunken (siehe Abbildung 19). Dies könnte mit dem vermutlich verringerten relativen Gehalt an Phospholipiden im hypertrophen Fettgewebe der insulinresistenten Tiere zusammenhängen, da die DHS in dieser Lipidklasse stark angereichert ist. Auffällig ist auch der prozentual größere Anteil an LS bei den DIO-Mäusen (siehe Abbildung 19). Während in der Leber der LS-Anteil vermutlich aufgrund der erhöhten AS-Synthese abfällt (siehe Kapitel 4.4.4), ist dieser im subkutanen Fettgewebe der DIO-Mäuse signifikant höher als in den beiden anderen Mausgruppen (siehe Abbildung 19). Dies kann daran liegen, dass die Δ -6- und Δ -5-Desaturase-Aktivität in der Leber wesentlich höher als im Fettgewebe ist [137]. Gleiches gilt auch für die Synthese von DHS und EPS aus α -LS (siehe Abbildung 19). EPS war im Fettgewebe der Mäuse so gut wie nicht nachweisbar (siehe Anhang Tabellen 15,16). DHS und α -LS haben im Fettgewebe (siehe Abbildung 19), wie von Cook ebenfalls ermittelt, einen kleineren Anteil als in der Leber (siehe Abbildung 15). Cazzolii et al. konnten zeigen, dass die Zugabe von LS zu Muskelzellen die Entstehung einer IR durch Störung des Insulinsignalweges fördern kann. Die erhöhten LS-Anteile im Muskel- (siehe Abbildung 21) und subkutanen Fettgewebe der DIO-Mäuse könnten somit die Entstehung einer IR begünstigen.

4.6 Muskelgewebe der Mäuse

4.6.1 Gesamtgehalt an unveresterten und veresterten Fettsäuren und Fettsäuremuster im Muskelgewebe der Mäuse

Wie zu erwarten beträgt die Gesamtkonzentration an Fettsäuren im Muskelgewebe nur einen Bruchteil ($\sim 1/20$) derer im Fettgewebe (siehe Abbildung 18 und 20). Die DIO-Mäuse haben im Vergleich zur Kontrollgruppe einen signifikant erhöhten Gesamtgehalt an Fettsäuren im Muskelgewebe. Quantitativ gesehen ist der Muskel kein wichtiges Organ für die Synthese von Fettsäuren [25]. Der von Cook beschriebene hohe Anteil an EPS und DHS im Muskelgewebe lässt sich nach diesen Messungen nur für EPS bestätigen. Borkman et al. ermittelten im Jahre 1993 eine mit zunehmender IR auftretende Abnahme der Konzentration an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (besonders der AS) in Skelettmuskel-phospholipiden [14]. Dieses Ergebnis stimmt abgesehen von der LS und α -LS mit den Ergebnissen dieser Arbeit überein.

Insgesamt sind die Ergebnisse, die aus den Messungen des Muskelgewebes hervorgehen, wahrscheinlich mit einem relativ großen methodischen Fehler behaftet. Dafür sprechen die durchgängig hohen Standardfehler. Das könnte zum Beispiel darauf zurückzuführen sein, dass bei der einen Maus mehr Sehnenanteil abpräpariert wurde als bei einer anderen. Die sorgfältige Präparation des kompletten Muskels war in dieser Studie nicht möglich, da die Gewebe für unterschiedlichste Messungen zwischen verschiedenen Arbeitsgruppen aufgeteilt wurden.

4.7 Gesättigte Fettsäuren

Die prozentuale Verteilung der gesättigten Fettsäuren ähnelt sich in allen Geweben bzw. im Plasma. So sind beispielsweise die Palmitin- und Stearinsäure im Plasma der Nüchtern-Messung im Vergleich zum Plasma der Postprandial-Messung in niedriger Konzentration vertreten, prozentual gesehen ergeben sich jedoch keine Unterschiede. Auffällig ist ein

prozentualer Anstieg der Stearinsäure im epididymalen Fett- und Lebergewebe der HFD1-Mäuse (siehe Abbildung 22, Tabelle 15). Diese Zunahme könnte auf den erhöhten Stearinsäuregehalt in der fettreichen Nahrung zurückzuführen sein, was zu einer vermehrten Speicherung von Stearinsäure in diesen Geweben führen könnte. Ebenfalls könnte sich dieser Anstieg mit der in Kapitel 4.4.5 beschriebenen nachlassenden $\Delta 9$ -Desaturase-Aktivität aufgrund der fettreichen Nahrungszufuhr erklären lassen. Interessanterweise ist der prozentuale Anteil an Stearinsäure in den Muskelgeweben aller drei Mausgruppen im Vergleich zu den anderen Organen am höchsten. Signifikante Unterschiede zwischen den Stearinsäureanteilen in den Muskeln der einzelnen Mausgruppen haben sich dabei nicht ergeben. Letzteres könnte durch eine verringerte Aufnahmefähigkeit des Muskelgewebes für Stearinsäure bedingt sein, oder es liegt im Gegensatz zum Leber- und Fettgewebe eine erhöhte $\Delta 9$ -Desaturase-Aktivität vor. Dafür spricht der mit fettreicher Nahrung ansteigende Ölsäuregehalt in den Muskeln der HFD1- und DIO-Mäuse.

5. Zusammenfassung

Eine dauerhaft fettreiche Ernährung kann die Entstehung von Adipositas, Insulinresistenz (IR), koronarer Herzkrankheit und Diabetes mellitus Typ II fördern. Die für die Entstehung dieser Krankheiten wichtigen Veränderungen des Lipidstoffwechsels sind noch nicht endgültig aufgeklärt. Das Ziel dieser Dissertation ist die Erstellung detaillierter Fettsäureprofile des Plasmas und verschiedener Organe von Mäusen mit diätinduzierter Adipositas und IR. Es wurden drei unterschiedlich ernährte Mausgruppen analysiert. Die Kontrollgruppe wurde mit Standardfutter, die HFD1-Mausgruppe eine Woche fettreich und die DIO-Mausgruppe 16 Wochen fettreich ernährt. Es wurde gezeigt, dass der Gesamtgehalt an Fettsäuren im Plasma der HFD1- und DIO-Mäuse erhöht ist, was sich auch im erhöhten Gehalt an Lipoproteinen widerspiegelt. Der Anteil an Arachidonsäure (AS) im Plasma steigt mit zunehmender Dauer der fettreichen Ernährung an, was vermutlich auf eine erhöhte Synthese und Sekretion aus der Leber zurückzuführen ist. Dies könnte zu einem Anstieg von proinflammatorischen Eicosanoiden führen. Neben den erhöhten Anteilen an ω -6-Fettsäuren in der fettreichen Nahrung wird ein erniedrigter Spiegel an α -Linolen- und Eicosapentaensäure im Plasma und in den Lebern der DIO-Mäuse gemessen. Dies kann zusätzlich zu einer verstärkten proinflammatorischen Wirkung der aus AS gebildeten Eicosanoide führen und die Entstehung von IR fördern. Sowohl der Gesamtgehalt an Fettsäuren als auch der Anteil an Ölsäure im Lebergewebe der HFD1-Mäuse sind im Vergleich zu den anderen Mausgruppen signifikant niedriger. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die HFD1-Mäuse noch in der Lage sind, aufgenommene Fettsäuren effektiv und direkt in die peripheren Gewebe abzutransportieren und zu speichern. Eine im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöhte Aktivität der Δ -9-Desaturase ist ebenfalls denkbar. Eine Veränderung des Fettsäuremusters ist bereits nach einer Woche fettreicher Ernährung zu beobachten. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die erste Stoffwechseleränderung bereits wenige Tage nach Fütterungsbeginn der fettreichen Nahrung eintritt. Die Rolle der Fettsäuremusteränderung im Pathomechanismus der IR muss weiter erforscht werden.

6. Abkürzungsverzeichnis

<u>Abkürzung</u>	<u>steht für:</u>
α -LS	α -Linolensäure
γ -LS	γ -Linolensäure
AS	Arachidonsäure
BHT	2,6-di-tert-butyl-p-cresol
C-Atome	Kohlenstoffatome
DHS	Docosahexaensäure
DIO	Diet induced obesity
EPS	Eicosapentaensäure
FD	Fetteiche Diät
FID	Flammenionisationsdetektor
FS	Fettsäuren
HDL	High density lipoproteins
HDL-C	High density lipoprotein-cholesterin
HFD	High fat diet
i.D.	Innerer Durchmesser
IDL	Intermediate density lipoproteins
IR	Insulinresistenz
KHK	Koronare Herzkrankheit
Konz.	konzentrierte
LCAT	Lecithin-Cholesterin-Acyl-Transferase
LDL	Low density lipoproteins
LDL-C	Low density lipoprotein-Cholesterin
LS	Linolsäure
Upm	Umdrehungen pro Minute
VLDL	Very low density lipoproteins
WHO	World Health Organization

7. Anhang

Tab. 7: Gehalt an Fettsäuren im Plasma der Nüchtern-Messung mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 7	Gruppe					
	Kontrollgruppe (n=4)		HFD1 (n=8)		DIO (n=8)	
Gehalt Fettsäure ± SF [µg/ml]						
Palmitinsäure	367,4	± 10,8	543,7	± 43,4 *	633,7	± 18,7 **
Linolsäure	307,5	± 13,5	447,6	± 30,7 *	485,0	± 15,5 **
Ölsäure	275,3	± 26,3	361,3	± 27,7	437,9	± 16,8 **a
Arachidonsäure	241,9	± 9,9	551,6	± 59 *	880,0	± 34,5 **b
Stearinsäure	149,0	± 2,2	270,7	± 24,1 *	309,4	± 13,2 **
Docosahexaensäure	110,5	± 3,2	155,3	± 9,9 *	230,9	± 7,2 **b
Palmitölsäure	47,7	± 4,6	51,3	± 5,4	32,2	± 1,6 *a
Hexacosansäure	36,8	± 4,0	58,9	± 7,6 **	108,9	± 5,5 **b
Vaccinsäure	26,6	± 3,4	23,6	± 3,0	35,7	± 2,9 a
Eicosapentaensäure	24,5	± 1,5	17,4	± 2,8	15,8	± 0,5 **
Caprylsäure	21,2	± 2,0	19,5	± 2,6	13,4	± 0,6 **a
Myristinsäure	18,8	± 6,5	14,0	± 1,4	10,5	± 3,1
Nervonsäure	12,7	± 1,0	16,5	± 1,9	26,1	± 1,5 **a
Myristölsäure	11,7	± 1,2	8,7	± 0,4 *	7,8	± 0,7 *
Erucasäure	8,2	± 0,8	12,9	± 6,0	8,2	± 1,0
Docosapentaensäure	8,1	± 0,4	9,5	± 0,7	9,3	± 0,3 *
Behensäure	7,8	± 2,9	19,2	± 1,5 *	16,4	± 1,4 *
Caprinsäure	7,8	± 2,4	7,2	± 0,7	4,9	± 0,2 a
11-14-Eicosadiensäure	5,8	± 1,1	8,5	± 3,6	3,7	± 0,2 *
Eicosaensäure	4,9	± 0,5	5,2	± 0,3	7,0	± 0,4 *a
γ-Linolensäure	4,3	± 0,2	11,3	± 1,1 *	8,0	± 0,4 **a
α-Linolensäure	3,2	± 0,2	4,3	± 0,3	3,4	± 0,1 a
Arachinsäure	3,1	± 0,6	5,6	± 2,0	4,2	± 1,0
Lignoceronsäure	2,5	± 0,3	3,6	± 0,3	3,8	± 0,2 *
Laurylsäure	1,1	± 0,2	1,5	± 0,4	1,5	± 0,5
Summe	1708,4	± 114,6	2629,0	± 617,4 *	3298,0	± 301,0 **a

Tab. 8: Fettsäuremuster im Plasma der Nüchtern-Messung mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 8	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=4)	HFD1 (n=8)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäure ± SF [%]			
Palmitinsäure	21,7 ± 0,23	20,7 ± 0,17 *	19,4 ± 0,21 **b
Linolsäure	18,1 ± 0,35	17,3 ± 0,51	14,8 ± 0,32 **a
Ölsäure	16,0 ± 0,97	13,8 ± 0,54	13,4 ± 0,28 *
Arachidonsäure	14,0 ± 0,30	20,5 ± 0,95 **	26,6 ± 0,41 **b
Stearinsäure	8,72 ± 0,20	10,3 ± 0,21 **	9,45 ± 0,15 *a
Docosahexaensäure	6,38 ± 0,11	5,81 ± 0,15 *	6,84 ± 0,11 *b
Palmitölsäure	2,88 ± 0,26	1,95 ± 0,08 *	0,98 ± 0,03 **b
Hexacosansäure	2,15 ± 0,23	2,15 ± 0,13	3,03 ± 0,40
Vaccinsäure	1,56 ± 0,12	0,95 ± 0,05 **	1,10 ± 0,05 *
Eicosapentaensäure	1,52 ± 0,13	0,72 ± 0,05 **	0,49 ± 0,02 **b
Caprylsäure	1,21 ± 0,07	0,79 ± 0,05 **	0,45 ± 0,02 **b
Myristinsäure	0,87 ± 0,16	0,54 ± 0,02 *	0,31 ± 0,04 *b
Lignoceronsäure	0,75 ± 0,01	0,62 ± 0,01	0,78 ± 0,00 *a
Erucasäure	0,65 ± 0,43	0,57 ± 0,16	0,26 ± 0,04
11-14-Eicosadiensäure	0,55 ± 0,11	0,40 ± 0,12 **	0,13 ± 0,03 a
Myristölsäure	0,55 ± 0,05	0,33 ± 0,01 **	0,22 ± 0,01 **b
Docosapentaensäure	0,46 ± 0,03	0,35 ± 0,01 *	0,28 ± 0,01 **b
Caprinsäure	0,43 ± 0,06	0,29 ± 0,01 *	0,16 ± 0,01 **b
Behensäure	0,34 ± 0,09	0,73 ± 0,02 *	0,49 ± 0,04 **b
γ-Linolensäure	0,26 ± 0,01	0,43 ± 0,02 **	0,25 ± 0,01 b
Eicosaensäure	0,26 ± 0,02	0,19 ± 0,01 *	0,21 ± 0,01 *
Arachinsäure	0,22 ± 0,04	0,24 ± 0,08	0,16 ± 0,05
α-Linolensäure	0,18 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,09 ± 0,00 **b
Nervensäure	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,03 *	0,11 ± 0,02 a
Laurylsäure	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,04 ± 0,01

Tab. 9: Gehalt an Fettsäuren im Plasma der Postprandial-Messung mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 9	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=4)	HFD1 (n=7)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäure ± SF [µg/ml]			
Palmitinsäure	553,6 ± 117,3	580,6 ± 29,1	750,2 ± 62,2 a
Linolsäure	558,7 ± 126,7	636,4 ± 26,1	716,4 ± 48,4
Ölsäure	351,6 ± 91,0	440,5 ± 36,1	554,8 ± 48,3
Arachidonsäure	288,3 ± 65,4	460,3 ± 34,4 *	895,6 ± 85,1 **b
Stearinsäure	217,8 ± 44,4	338,1 ± 16,8 *	444,3 ± 31,0 *a
Docosahexaensäure	140,9 ± 29,4	111,9 ± 6,3	196,5 ± 16,5 b
Palmitölsäure	41,6 ± 13,3	32,7 ± 2,6	38,7 ± 3,7
Hexacosansäure	40,8 ± 4,4	40,2 ± 2,1	74,8 ± 10,2 **b
Vaccinsäure	30,0 ± 10,1	31,0 ± 2,8	44,9 ± 5,4 a
Eicosapentaensäure	42,0 ± 8,7	11,4 ± 0,5 **	14,5 ± 1,2 **a
Caprylsäure	22,9 ± 3,1	17,2 ± 1,1	19,5 ± 1,3
Myristinsäure	10,7 ± 1,6	14,2 ± 1,2	13,2 ± 2,5
Nervonsäure	13,7 ± 2,5	10,2 ± 0,4	20,7 ± 2,0 b
Myristölsäure	11,0 ± 2,0	8,8 ± 0,7	9,6 ± 1,1
Erucasäure	7,7 ± 1,1	8,7 ± 2,2	8,9 ± 2,1
Docosapentaensäure	10,5 ± 1,9	7,9 ± 0,5	8,3 ± 0,5
Behensäure	8,9 ± 2,1	14,1 ± 1,0 *	15,5 ± 1,6 *
Caprinsäure	6,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2	6,9 ± 0,8
11-14-Eicosadiensäure	2,9 ± 0,5	6,8 ± 0,7 *	6,9 ± 0,8 *
Eicosaensäure	7,7 ± 1,9	9,0 ± 0,8	9,6 ± 1,0
γ-Linolensäure	5,1 ± 1,3	6,7 ± 0,3	7,3 ± 0,7
α-Linolensäure	8,2 ± 2,2	6,6 ± 0,7	5,3 ± 0,5
Arachinsäure	2,6 ± 0,2	7,0 ± 1,1 **	3,4 ± 0,4 b
Lignoceronsäure	3,1 ± 0,6	2,6 ± 0,2	3,0 ± 0,2
Laurylsäure	2,5 ± 0,5	2,8 ± 0,3	1,2 ± 0,4
Summe	2388,9 ± 1055	2811,7 ± 383,7 *	3870,6 ± 873,6 *

Tab. 10: Fettsäuremuster im Plasma der Postprandial-Messung mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 10	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=4)	HFD1 (n=7)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäure ± SF [%]			
Palmitinsäure	22,8 ± 0,51	20,8 ± 0,10 **	19,3 ± 0,17 **b
Linolsäure	23,0 ± 0,23	22,9 ± 0,49	18,6 ± 0,41 **b
Ölsäure	14,2 ± 0,63	15,6 ± 0,61	14,4 ± 0,31
Arachidonsäure	11,8 ± 0,30	16,1 ± 0,66 **	23,0 ± 0,58 **b
Stearinsäure	9,14 ± 0,16	12,0 ± 0,13 **	11,4 ± 0,16 **a
Docosahexaensäure	5,71 ± 0,16	3,88 ± 0,10 **	5,11 ± 0,09 *b
Palmitölsäure	1,69 ± 0,16	1,18 ± 0,04 *	0,99 ± 0,03 **a
Hexacosansäure	1,86 ± 0,30	1,54 ± 0,10	1,90 ± 0,10
Vaccinsäure	1,21 ± 0,12	1,11 ± 0,05	1,16 ± 0,08
Eicosapentaensäure	1,96 ± 0,17	0,42 ± 0,02 **	0,36 ± 0,01 **a
Caprylsäure	1,17 ± 0,14	0,64 ± 0,05 *	0,51 ± 0,01 **a
Myristinsäure	0,48 ± 0,06	0,48 ± 0,02	0,39 ± 0,07
Lignoceronsäure	0,59 ± 0,01	0,36 ± 0,01 *	0,52 ± 0,00 **
Erucasäure	0,59 ± 0,20	0,32 ± 0,10	0,20 ± 0,05 *
11-14-Eicosadiensäure	0,35 ± 0,25	0,24 ± 0,02	0,19 ± 0,01 a
Myristölsäure	0,51 ± 0,02	0,33 ± 0,02 **	0,26 ± 0,01 **a
Docosapentaensäure	0,43 ± 0,02	0,27 ± 0,01 **	0,21 ± 0,01 **b
Caprinsäure	0,38 ± 0,12	0,23 ± 0,01	0,30 ± 0,13
Behensäure	0,35 ± 0,03	0,51 ± 0,03 *	0,43 ± 0,05
γ-Linolensäure	0,20 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,19 ± 0,01 a
Eicosaensäure	0,45 ± 0,14	0,31 ± 0,01	0,25 ± 0,01 a
Arachinsäure	0,15 ± 0,07	0,18 ± 0,03	0,10 ± 0,02
α-Linolensäure	0,32 ± 0,02	0,23 ± 0,02 *	0,14 ± 0,01 **b
Nervonsäure	0,14 ± 0,03	0,09 ± 0,02 **	0,08 ± 0,02 b
Laurylsäure	0,56 ± 0,45	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,01 a

Tab. 11: Gesamtgehalt an Fettsäuren im Lebergewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 11	Gruppe					
	Kontrollgruppe (n=8)		HFD1 (n=8)		DIO (n=8)	
Gehalt Fettsäuren ± SF [µg/mg]	162,5	± 9,3	94,4	± 2,7	**	212,1 ± 7,6 * ^b

Tab. 12: Fettsäuremuster im Lebergewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = p<0,05; ** = p<0,001; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = p<0,05; ^b = p<0,001

Tabelle: 12	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=8)	HFD1 (n=8)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäure ± SF [%]			
Ölsäure	35,5 ± 0,76	30,2 ± 0,98 **	44,3 ± 0,52 **b
Palmitinsäure	23,8 ± 0,35	23,5 ± 0,50	25,4 ± 0,39 *a
Linolsäure	16,8 ± 0,51	18,0 ± 0,32	13,0 ± 0,61 **b
Stearinsäure	3,95 ± 0,13	6,97 ± 0,15 **	3,04 ± 0,10 **b
Palmitölsäure	5,67 ± 0,34	3,55 ± 0,17 **	2,67 ± 0,13 **a
Arachidonsäure	3,34 ± 0,11	7,35 ± 0,48 **	3,15 ± 0,12 b
Docosahexaensäure	3,66 ± 0,19	3,99 ± 0,26	1,84 ± 0,11 **b
Vaccinsäure	2,41 ± 0,07	1,43 ± 0,14 **	3,19 ± 0,16 **b
Myristinsäure	1,12 ± 0,05	0,90 ± 0,06 *	0,53 ± 0,03 **b
Eicosapentaensäure	0,70 ± 0,06	0,40 ± 0,05 *	0,15 ± 0,01 **b
α-Linolensäure	0,68 ± 0,04	0,50 ± 0,03 *	0,19 ± 0,01 **b
γ-Linolensäure	0,45 ± 0,02	0,66 ± 0,02 **	0,32 ± 0,02 *b
Docosapentaensäure	0,44 ± 0,03	0,38 ± 0,02	0,26 ± 0,02 **b
Eicosaensäure	0,43 ± 0,02	0,37 ± 0,01 *	1,04 ± 0,04 **b
Hexacosansäure	0,24 ± 0,01	0,31 ± 0,02 *	0,22 ± 0,01 b
11-14-Eicosadiensäure	0,16 ± 0,01	0,35 ± 0,04 **	0,27 ± 0,01 **
Laurylsäure	0,14 ± 0,01	0,10 ± 0,01 *	0,02 ± 0,00 **b
Behensäure	0,12 ± 0,01	0,30 ± 0,01 **	0,07 ± 0,01 **b
Nervensäure	0,11 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,07 ± 0,01 *b
Myristölsäure	0,08 ± 0,00	0,06 ± 0,01 *	0,01 ± 0,00 **b
Arachinsäure	0,07 ± 0,00	0,14 ± 0,01 **	0,16 ± 0,02 *
11-14-17-Eicosatriensäure	0,06 ± 0,01	0,14 ± 0,01 **	0,06 ± 0,00 **
Lignoceronsäure	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,00 **b
Erucasäure	0,05 ± 0,01	0,10 ± 0,01 **	0,07 ± 0,00 *a
Caprinsäure	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,02 ± 0,00 **b

Tab. 13: Gesamtgehalt an Fettsäuren im epididymalen Fettgewebe mit Standardfehler.

Tabelle: 13	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=5)	HFD1 (n=6)	DIO (n=5)
Gehalt Fettsäuren ± SF [µg/mg]	443,4 ± 64,1	484,2 ± 39,0	490,9 ± 22,41

Tab. 14: Gesamtgehalt an Fettsäuren im subkutanen Fettgewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = p<0,05; ** = p<0,001

Tabelle: 14	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=6)	HFD1 (n=7)	DIO (n=7)
Gehalt Fettsäuren ± SF [µg/mg]	569,4 ± 76,8	805,3 ± 50,8 *	863,1 ± 18,2 **

Tab. 15: Fettsäuremuster im epididymalen Fettgewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 15	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=5)	HFD1 (n=6)	DIO (n=5)
Gehalt Fettsäure ± SF [%]			
Ölsäure	50,07 ± 1,04	47,11 ± 0,52 *	55,46 ± 0,30 * ^b
Palmitinsäure	19,12 ± 0,77	22,30 ± 0,52 *	16,11 ± 0,40 * ^b
Linolsäure	11,85 ± 0,35	12,02 ± 0,46	16,25 ± 0,21 ** ^b
Palmitölsäure	7,97 ± 0,69	7,62 ± 0,37	3,60 ± 0,11 ** ^b
Vaccinsäure	4,40 ± 0,11	3,60 ± 0,10 **	3,25 ± 0,04 ** ^a
Stearinsäure	2,09 ± 0,16	3,12 ± 0,16 *	2,98 ± 0,12 *
Myristinsäure	1,48 ± 0,05	1,63 ± 0,03 *	0,68 ± 0,01 ** ^b
Eicosaensäure	1,14 ± 0,08	0,81 ± 0,02 *	0,57 ± 0,02 ** ^b
α-Linolensäure	0,39 ± 0,05	0,47 ± 0,03	0,28 ± 0,01 ^b
11-14-Eicosadiensäure	0,36 ± 0,08	0,44 ± 0,03	0,34 ± 0,01 ^a
Docosahexaensäure	0,33 ± 0,04	0,12 ± 0,01 **	0,04 ± 0,01 ** ^b
Arachidonsäure	0,31 ± 0,05	0,34 ± 0,01	0,22 ± 0,02 ^b
Myristölsäure	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,03 ± 0,01 ** ^b
Docosapentaensäure	0,11 ± 0,02	0,05 ± 0,00 *	0,02 ± 0,00 * ^b
Erucasäure	0,10 ± 0,05	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,03
Eicosapentaensäure	0,05 ± 0,01	0,00 ± 0,00 *	0,00 ± 0,00 *
γ-Linolensäure	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,03 ± 0,01 ^a
11-14-17-Eicosatriensäure	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,01 *	0,05 ± 0,01 ^a

Tab. 16: Fettsäuremuster im subkutanen Fettgewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 16	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=8)	HFD1 (n=8)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäure ± SF [%]			
Ölsäure	50,07 ± 1,04	47,11 ± 0,52 *	55,46 ± 0,30 * ^b
Palmitinsäure	19,12 ± 0,77	22,30 ± 0,52 *	16,11 ± 0,40 * ^b
Linolsäure	11,85 ± 0,35	12,02 ± 0,46	16,25 ± 0,21 ** ^b
Palmitölsäure	7,97 ± 0,69	7,62 ± 0,37	3,60 ± 0,11 ** ^b
Stearinsäure	2,09 ± 0,16	3,12 ± 0,16 *	2,98 ± 0,12 *
Vaccinsäure	4,40 ± 0,11	3,60 ± 0,10 **	3,25 ± 0,04 ** ^a
Eicosaensäure	1,14 ± 0,08	0,81 ± 0,02 *	0,57 ± 0,02 ** ^b
Myristinsäure	1,48 ± 0,05	1,63 ± 0,03 *	0,68 ± 0,01 ** ^b
Docosahexaensäure	0,33 ± 0,04	0,12 ± 0,01 **	0,04 ± 0,01 ** ^b
α-Linolensäure	0,39 ± 0,05	0,47 ± 0,03	0,28 ± 0,01 ^b
Arachidonsäure	0,31 ± 0,05	0,34 ± 0,01	0,22 ± 0,02 ^b
11-14-Eicosadiensäure	0,36 ± 0,08	0,44 ± 0,03	0,34 ± 0,01 ^a
Docosapentaensäure	0,11 ± 0,02	0,05 ± 0,00 *	0,02 ± 0,00 * ^b
Myristölsäure	0,14 ± 0,01	0,14 ± 0,01	0,03 ± 0,01 ** ^b
Eicosapentaensäure	0,05 ± 0,01	0,00 ± 0,00 *	0,00 ± 0,00 *
11-14-17-Eicosatriensäure	0,04 ± 0,00	0,08 ± 0,01 *	0,05 ± 0,01 ^a
γ-Linolensäure	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,03 ± 0,01 ^a

Tab. 17: Gesamtgehalt an Fettsäuren im Muskelgewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$

Tabelle: 17	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=8)	HFD1 (n=8)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäuren ± SF [µg/mg]	21,6 ± 4,0	35,8 ± 9,8	41,5 ± 6,1 *

Tab. 18: Fettsäuremuster im Muskelgewebe mit Standardfehler. T-Test HFD1 o. DIO gegen Kontrollgruppe: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,001$; T-Test DIO gegen HFD1: ^a = $p < 0,05$; ^b = $p < 0,001$

Tabelle: 18	Gruppe		
	Kontrollgruppe (n=8)	HFD1 (n=8)	DIO (n=8)
Gehalt Fettsäure ± SF [%]			
Ölsäure	27,8 ± 3,8	34,0 ± 2,24	38,6 ± 2,50 *
Palmitinsäure	23,2 ± 0,66	22,6 ± 0,72	20,6 ± 0,41 *a
Linolsäure	11,5 ± 0,34	11,8 ± 0,49	14,8 ± 0,13 **b
Stearinsäure	9,95 ± 1,58	7,83 ± 0,90	7,32 ± 0,81
Arachidonsäure	5,58 ± 0,85	3,99 ± 0,65	3,69 ± 0,66
Palmitölsäure	5,31 ± 0,83	7,67 ± 1,01	4,19 ± 0,24 a
Docosahexaensäure	5,07 ± 1,13	2,66 ± 0,56	2,77 ± 0,43
Vaccinsäure	3,74 ± 0,16	3,37 ± 0,16 *	3,13 ± 0,06
Myristinsäure	1,66 ± 0,06	1,94 ± 0,10 *	1,11 ± 0,04 **b
Nervonsäure	1,13 ± 0,32	0,47 ± 0,11 *	0,57 ± 0,17
Erucasäure	1,07 ± 0,22	0,54 ± 0,10 *	0,57 ± 0,13
Eicosapentaensäure	0,76 ± 0,16	0,44 ± 0,08	0,39 ± 0,12
Docosapentaensäure	0,75 ± 0,13	0,45 ± 0,08	0,54 ± 0,09
Eicosaensäure	0,58 ± 0,05	0,51 ± 0,06	0,37 ± 0,02 *a
Caprinsäure	0,37 ± 0,06	0,23 ± 0,04	0,23 ± 0,05
Laurylsäure	0,29 ± 0,02	0,21 ± 0,01 *	0,18 ± 0,02 *
11-14-Eicosadiensäure	0,28 ± 0,02	0,41 ± 0,02 **	0,42 ± 0,01 **
Myristölsäure	0,24 ± 0,04	0,21 ± 0,03	0,02 ± 0,01 **b
Arachinsäure	0,19 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,12 ± 0,02 *
Behensäure	0,18 ± 0,05	0,11 ± 0,02	0,07 ± 0,02
α-Linolensäure	0,16 ± 0,03	0,24 ± 0,03	0,22 ± 0,02
Lignoceronsäure	0,13 ± 0,08	0,10 ± 0,10	0,02 ± 0,02
γ-Linolensäure	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,02	0,02 ± 0,02
11-14-17-Eicosatriensäure	0,02 ± 0,03	0,02 ± 0,02	0,05 ± 0,02

8. Literaturverzeichnis

1. Abedin L et al. (1999) The effects of dietary alpha-linolenic acid compared with docosahexaenoic acid on brain, retina, liver, and heart in the guinea pig. *Lipids*, (5): S. 475-82.
2. Alberti K, Zimmet P (1998) Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.*, 15(7): S. 539-53.
3. Alexander RW (1995) Hypertension and the Pathogenesis of Atherosclerosis : Oxidative Stress and the Mediation of Arterial Inflammatory Response: A New Perspective. *Hypertension*, 25(2): S. 155-161.
4. Assmann G, Cullen P, Schulte H (1998) The Munster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *European Heart Journal*, 19(2): S. A2-A11.
5. Astrup A et al. (1994) Obesity as an adaptation to a high-fat diet: evidence from a cross- sectional study. *Am J Clin Nutr*, 59(2): S. 350-355.
6. Azizi F et al. (2003) Prevalence of metabolic syndrome in an urban population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 61(1): S. 29-37.
7. Balkau B, Charles M (1999) Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetic Med.*, 16(5): S. 442-443.
8. Bevilacqua S et al. (1987) Acute elevation of free fatty acid levels leads to hepatic insulin resistance in obese subjects. *Metabolism*, 36(5): S. 502-6.
9. Biesalski (2004) *Ernährungsmedizin*. Thieme Verlag, (3): S. 82-83.

10. Bjorntorp P (1990) "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 10(4): S. 493-496.
11. Bloomgarden Z (1998) Insulin resistance: current concepts. *Clinical Therapeutics*, 20(2): S. 216-231.
12. Böcker, Denk, Heitz (2001) *Pathologie*. Urban & Fischer, 2. Auflage
13. Boden G (1997) Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes.*, 46(3): S. 536.
14. Borkman M et al. (1993) The Relation between Insulin Sensitivity and the Fatty-Acid Composition of Skeletal-Muscle Phospholipids. *N Engl J Med*, 328(4): S. 238-244.
15. Bousquet J et al. (1993) Histochemical evidence for induction of arachidonate 15-lipoxygenase in airway disease. *The american review of respiratory disease*, 147(4): S. 1024-8.
16. Burr M et al. (1989) Effect of changes in fat, fish and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet*, 2: S. 757-61.
17. Calder PC (2006) n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr*, 83(6): S. S1505-1519.
18. Campillo J et al. (1979) Effect of oleic acid on insulin secretion by the isolated perfused rat pancreas. *Diabetologia*, 16(4): S. 267-73.
19. Castelli W et al. (1977) HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation*, 55(5): S. 767-772.
20. Chan D, Barrett H, Watts G (2004) Dyslipidemia in visceral obesity: mechanisms, implications, and therapy. *Am J Cardiovasc Drugs*, 4(4): S. 227-46.

21. Chan J, Bruce V, McDonald B (1991) Dietary alpha-linolenic acid is as effective as oleic acid and linoleic acid in lowering blood cholesterol in normolipidemic men. *Am J Clin Nutr*, 53(5): S. 1230-1234.
22. Christensen JH et al. (1996) Effect of fish oil on heart rate variability in survivors of myocardial infarction: a double blind randomised controlled trial. *BMJ*, 312(7032): S. 677-678.
23. Christie W (1985) Rapid separation and quantification of lipid classes by high performance liquid chromatography and mass (light-scattering) detection. *J. Lipid Res.*, 26(4): S. 507-512.
24. Classen, Diehl, Kochsiek (2004) *Innere Medizin*. Urban & Fischer, 5. Auflage
25. Cook HW (1996) Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. Elsevier Science B.V.: S. 129-153.
26. DeFronzo R, Ferrannini E (1991) Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care*, 14(3): S. 173-194.
27. DeFronzo R, Tobin J, Andres R (1979) Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 237(3): S. E214-223.
28. Diabetes Zentrum Deutschland (2005) *Leibniz-Zentrum an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*.
29. Dietel M, Suttorp N, Zeitz M (2005) *Harrisons Innere Medizin - Deutsche Ausgabe in Zusammenarbeit mit der Charité*. ABW Wissenschaftsverlag, 16. Auflage
30. Djousse L et al. (2001) Relation between dietary linolenic acid and coronary artery disease in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Clin Nutr*, 74(5): S. 612-619.

31. Dresner A et al. (1999) Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Clin. Invest.*, 103(2): S. 253-259.
32. Eder K (1995) Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. *J Chromatogr B Biomed Appl.*, 671(1-2): S. 113-131.
33. Erlinger TP et al. (2004) C-Reactive Protein and the Risk of Incident Colorectal Cancer. *JAMA*, 291(5): S. 585-590.
34. Ferrannini E et al. (1983) Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. *J Clin Invest*, 72: S. 1737-1747.
35. Folch J et al. (1951) Preparation of lipide extracts from brain tissue. *J. Biol. Chem.*, 191(2): S. 833-841.
36. Folch J, Lees M, Stanley GHS (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, 226(1): S. 497-509.
37. Ford E, Giles W, Dietz W (2002) Prevalence of the Metabolic Syndrome Among US Adults. *JAMA*, 287: S. 356-359.
38. Fukuchi S et al. (2004) Role of Fatty Acid Composition in the Development of Metabolic Disorders in Sucrose-Induced Obese Rats. *Experimental Biology and Medicine*, 229(6): S. 486-493.
39. Garces R, Mancha M (1993) One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues. *Anal. Biochemie*, 211(1): S. 139-143.
40. Girman CJ et al. (2004) The metabolic syndrome and risk of major coronary events in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) and the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). *The American journal of cardiology*, 93(2): S. 136-141.

41. Gordon D et al. (1989) High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation*, 79(1): S. 8-15.
42. Gordon T et al. (1977) High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *The American Journal of Medicine*, 62(5): S. 707-14.
43. Greiser E et al. (1989) Cardiovascular disease risk factors, CHD morbidity and mortality in the Federal Republic of Germany. *Int. J. Epidemiol.*, 18(1): S. 118-124.
44. Grundy S et al. (2005) Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation*, 112: S. 2735–52.
45. Grundy SM et al. (2004) Clinical Management of Metabolic Syndrome: Report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association Conference on Scientific Issues Related to Management. *Circulation*, 109(4): S. 551-556.
46. Haffner S et al. (1992) Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (Syndrome X). *Diabetes*, 41: S. 715-722.
47. Hagenfeldt L, Wahren J (1975) Turnover of plasma-free arachidonic and oleic acids in resting and exercising human subjects. *Elsevier Science (USA)*, 24(7): S. 799-806.
48. Hamann A, Tafel J (2003) Gen-Gen-Interaktionen bei der Regulation des Körpergewichts. *Aktuel. Ernährungsmed.*, 28: S. 137-142.
49. Hamsten A et al. (1986) Serum lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis.*, 59(2): S. 223-35.
50. Hanefeld M, Leonhard W (1981) Das metabolische Syndrom. *Deut. Gesundheitswes.*, 36: S. 545-551.
51. Hanson RL et al. (2002) Components of the "Metabolic Syndrome" and Incidence of Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 51(10): S. 3120-3127.

52. Häring H (1999) Pathogenesis of type II diabetes : are there common causes for insulin resistance and secretion failure? *Exp. Clin. Endocr. Diab.*, 107(2): S. 17-23.
53. Hauner H et al. (2006) Adipositas und Diabetes mellitus. *Diabetologie*: S. 211-216.
54. Hayes KC (2000) Dietary fatty acids, cholesterol, and the lipoprotein profile. *British Journal of Nutrition.*, 84(4): S. 397-399(3).
55. Helgadottir A, Manolescu A, Thorleifsson G (2004) The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nature Genetics*, 36(3): S. 233-9.
56. Henderson WR (1994) The Role of Leukotrienes in Inflammation. *Ann Intern Med*, 121(9): S. 684-697.
57. Himsworth H, Kerr R (1939) Insulin sensitive and insulin-insensitive types of diabetes mellitus. *Clin. Sci.*, (4): S. 119.
58. Hotamisligil G (2000) Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 24(4): S. 23-27.
59. Hotamisligil G, al. (1993) Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 259(5091): S. 87-91.
60. Hotamisligil G et al. (1994) Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. *J Clinical Investion*, 94(4): S. 1543–1549.
61. Hu FB et al. (1999) Dietary intake of {alpha}-linolenic acid and risk of fatal ischemic heart disease among women. *Am J Clin Nutr*, 69(5): S. 890-897.
62. IDF (2005) International Diabetes Federation. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrom.
63. Isomaa B et al. (2001) Cardiovascular Morbidity and Mortality Associated with the Metabolic Syndrome. *Diabetes Care*, 24(4): S. 683-689.

64. Kahn S, Hull R, Utzschneider K (2006) Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121): S. 840-6.
65. Kaplan N (1989) The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*, 149(7): S. 1514-1520.
66. Kelley D et al. (1993) Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *The journal of clinical investigation*, 92(1): S. 91-8.
67. Kylin E (1923) Studien über das Hypertonie - Hyperglykämie - Hyperurikämiesyndrom. *Zentralblatt fuer Innere Medizin*, 44: S. 105-27.
68. Laaksonen DE et al. (2002) Metabolic Syndrome and Development of Diabetes Mellitus: Application and Validation of Recently Suggested Definitions of the Metabolic Syndrome in a Prospective Cohort Study. *Am. J. Epidemiol.*, 156(11): S. 1070-1077.
69. Lakka H-M et al. (2002) The Metabolic Syndrome and Total and Cardiovascular Disease Mortality in Middle-aged Men. *JAMA*, 288(21): S. 2709-2716.
70. Landmesser U, Hornig B, Drexler H (2004) Endothelial Function: A Critical Determinant in Atherosclerosis? *Circulation*, 109(1): S. II-27-33.
71. Leaf A, Kang J (1997) Dietary n-3 fatty acids in the prevention of lethal cardiac arrhythmias. *Current opinion in lipidology*, 8(1): S. 4-6.
72. Lepage G, Roy C (1986) Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J. Lipid Res.*, 27(1): S. 114-120.
73. Libby P (2002) Insight review articles - Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420: S. 868-74.
74. Lin S et al. (2000) Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *International Journal of Obesity*, 24,(5): S. 639-646.

-
75. Löffler, Petrides (2003) *Biochemie & Pathobiochemie*. Thieme Verlag, (7): S. 458-459.
 76. Lusis AJ (2000) Insight review articles - Atherosclerosis. *Nature*, 407.
 77. MacMahon S et al. (1990) Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*, 335(8692): S. 765-74.
 78. Malik S et al. (2004) Impact of the Metabolic Syndrome on Mortality From Coronary Heart Disease, Cardiovascular Disease, and All Causes in United States Adults. *Circulation*, 110(10): S. 1245-1250.
 79. Mann N et al. (1997) The effect of short-term diets rich in fish, red meat, or white meat on thromboxane and prostacyclin synthesis in humans. *Lipids*, 32(6): S. 635-44.
 80. Martin M et al. (1986) Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361,662 men. *Lancet*, 2(8513): S. 933-6.
 81. Masood A, Stark KD, Salem N, Jr. (2005) A simplified and efficient method for the analysis of fatty acid methyl esters suitable for large clinical studies. *J. Lipid Res.*, 46(10): S. 2299-2305.
 82. Matthews DR et al. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and T²-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7): S. 412-419.
 83. McVeigh G et al. (1994) Fish oil improves arterial compliance in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arteriosclerosis and Thrombosis*, 14: S. 1425-1429.
 84. Mensink RP et al. (2003) Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 77(5): S. 1146-1155.

85. Moebus S et al. (2006) Assessing the prevalence of the metabolic syndrome according to NCEP ATP III in Germany: feasibility and quality aspects of a two step approach in 1550 randomly selected primary health care practices. *GMS Ger Med Sci*, 4.
86. Moebus S, Stang A (2007) Das metabolisches Syndrom – ein umstrittenes diagnostisches Konzept. *Herz*, 32: S. 529-540.
87. Moncada S (1983) Biology and therapeutic potential of prostacyclin. *Stroke*, 14(2): S. 157-68.
88. Mouritsen OG (2005) *Life - As a matter of fat*. Springer, Berlin, 1. Auflage
89. Muller G et al. (1997) Leptin Impairs Metabolic Actions of Insulin in Isolated Rat Adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 272(16): S. 10585-10593.
90. National Institutes of Health (2001) Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, 285: S. 2486-2497.
91. Nestel P et al. (2002) The n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid increase systemic arterial compliance in humans. *Am J Clin Nutr*, 76(2): S. 326-330.
92. Neuhauser H, Ellert U (2005) Prävalenz des metabolischen Syndroms in Deutschland: eine Sensitivitätsanalyse. *German Medical Science*.
93. Obrosova IG et al. (2007) High-Fat Diet Induced Neuropathy of Pre-Diabetes and Obesity: Effects of "Healthy" Diet and Aldose Reductase Inhibition. *Diabetes*, 56(10): S. 2598-2608.
94. Petit V et al. (2007) Chronic high-fat diet affects intestinal fat absorption and postprandial triglyceride levels in the mouse. *J. Lipid Res.*, 48(2): S. 278-287.
95. Randle P et al. (1963) The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet*, 13(1): S. 785-9.

96. Reaven G (1988) Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37: S. 1595-1607.
97. Reaven G et al. (1988) Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate, and insulin for 24 h in patients with NIDDM. *Diabetes*, 37(8): S. 1020-1024.
98. Richter G, *Praktische Biochemie, Grundlagen und Techniken*. 2003: Georg Thieme Verlag: S. 291.
99. Roden M et al. (1996) Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest*, 97: S. 2859-2865.
100. Ryysy L et al. (2000) Hepatic fat content and insulin action on free fatty acids and glucose metabolism rather than insulin absorption are associated with insulin requirements during insulin therapy in type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 49(5): S. 749-758.
101. Salati LM, Goodridge AG (1996) *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes: Fatty acid synthesis in eukaryotes*. Elsevier Science B.V.
102. Sanders T, Roshanai F (1983) The influence of different types of omega 3 polyunsaturated fatty acids on blood lipids and platelet function in healthy volunteers. *Clinical Science*, 64(1): S. 91-9.
103. Schrauwen P (2007) High-fat diet, muscular lipotoxicity and insulin resistance. *Proceedings of the Nutrition Society*, 66: S. 33-41.
104. Segal K, Landt M, Klein S (1996) Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men. *Diabetes*, 45(7): S. 988-991.
105. Segura R (1988 May 27) Preparation of fatty acid methyl esters by direct transesterification of lipids with aluminium chloride-methanol. *J Chromatogr.*, 441: S. 99-113.
106. Sellmayer A et al. (1995) Effects of dietary fish oil on ventricular premature complexes. *The american journal of cardiology*, 76(12): S. 974-7.

107. Shimasaki H, Phillips F, Privett O (1977) Direct transesterification of lipids in mammalian tissue for fatty acid analysis via dehydration with 2,2'-dimethoxypropane. *J. Lipid Res.*, 18(4): S. 540-543.
108. Shorland FB, Bruce LW, Jessop AS (1952) Studies on the composition of horse oil 2. The component fatty acids of lipids from fatty tissues, muscle and liver. *Biochem. J.*, 52(3).
109. Shulman GI (2000) Cellular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 106(2): S. 171-176.
110. Simon JA et al. (1995) Serum Fatty Acids and the Risk of Coronary Heart Disease. *Am. J. Epidemiol.*, 142(5): S. 469-476.
111. Simopoulos AP (1999) Essential fatty acids in health and chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 70(3): S. 560S-569S.
112. Simopoulos AP (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedecine & Pharmacotherapy*, 56(8): S. 365-379.
113. Siscovick DS et al. (1995) Dietary intake and cell membrane levels of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids and the risk of primary cardiac arrest. *JAMA*, 274(17): S. 1363-1367.
114. Snyder EE et al. (2004) The Human Obesity Gene Map: The 2003 Update. *Obesity Res*, 12(3): S. 369-439.
115. Spector A (1999) Essentiality of fatty acids. *Lipids*, 34: S. S1-S3.
116. Stampfer M et al. (1991) A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 325(6): S. 373-381.
117. Statistisches-Bundesamt (2004) Fachserie 12, Reihe 4: Gesundheitswesen - Todesursachen in Deutschland.
118. Steiner G, Morita S, Vranic M (1980) Resistance to insulin but not to glucagon in lean human hypertriglyceridemics. *Diabetes*, 29(11): S. 899-905.

119. Stocker R, Keaney JF (2004) Role of Oxidative Modifications in Atherosclerosis. *Physiol. Rev.*, 84: S. 1381-1478.
120. Storlien L et al. (1987) Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science*, 237(4817): S. 885-888.
121. Stryer L, Berg J, Tymoczko J (2003) *Biochemie*. Spektrum Akademischer Verlag, 5. Auflage
122. Stumvoll M, Goldstein B, Haeften Tv (2005) Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*, 365(9467): S. 1333-46.
123. Surwit R et al. (1988) Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*, 37(1163-7).
124. Swislocki ALM et al. (1987) Insulin suppression of plasma-free fatty acid concentration in normal individuals and patients with Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia*, 30(8): S. 622-626.
125. Thiebaut D et al. (1982) Effect of long chain triglyceride infusion on glucose metabolism in man. *Metabolism*, 31: S. 1128-1136.
126. Trebble T et al. (2003) Inhibition of tumour necrosis factor-[alpha] and interleukin 6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation. *British Journal of Nutrition*, 90(2): S. 405-412.
127. Vague J (1947) La différenciation sexuelle, facteur déterminant des formes de l'obésité. *Presse Med.*, 30: S. 339-340.
128. Van Dyke TE, Serhan CN (2003) Resolution of Inflammation: A New Paradigm for the Pathogenesis of Periodontal Diseases. *J Dent Res*, 82(2): S. 82-90.
129. Van-Gaal L, Mertens I, Block CD (2006) Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*, 444(7121): S. 875-80.

130. Vessby B, Tengblad S, Lithell H (1994) Insulin sensitivity is related to the fatty acid composition of serum lipids and skeletal muscle phospholipids in 70-year-old men. *Diabetologia*, 37: S. 1044–1050.
131. Von Eckardstein A, Nofer J-R, Assmann G (2001) High Density Lipoproteins and Arteriosclerosis : Role of Cholesterol Efflux and Reverse Cholesterol Transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 21(1): S. 13-27.
132. Von Lossonczy T et al. (1978) The effect of a fish diet on serum lipids in healthy human subjects. *Am J Clin Nutr*, 31(8): S. 1340-1346.
133. Whelan J et al. (1992) Dietary arachidonic and linoleic acids: comparative effects on tissue lipids. *Lipids*, (1): S. 85-8.
134. Wijendran V, Hayes KC (2004) Dietary n-6 and n-3 fatty acid balance and cardiovascular health. *Annual Review of Nutrition*, 24(1): S. 597-615.
135. Wolfe LS, Horrocks LA (1994) Eicosanoids. *Basis Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*, 5: S. 475-490.
136. Woollett L, Spady D, Dietschy J (1992) Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J. Lipid Res.*, 33(1): S. 77-88.
137. Zhou L, Nilsson A (2001) Sources of eicosanoid precursor fatty acid pools in tissues. *J. Lipid Res.*, 42(10): S. 1521-1542.

9. Danksagung

An erster Stelle sei Frau Prof. Dr. rer. physiol. Dr. h.c. Ulrike Beisiegel für die Übernahme und exzellente Betreuung meiner Dissertation gedankt. Ich habe mich sehr darüber gefreut, dass Sie immer ein offenes Ohr für mich hatten. Ein großes Dankeschön richte ich auch an Herrn Dr. Klaus Tödter und Herrn Dr. Ludger Scheja, die immer sehr hilfsbereit und am Erfolg meiner Dissertation interessiert waren.

Meinen Eltern danke ich dafür, dass sie mich jederzeit unterstützt haben. Sie haben es mir ermöglicht die Zeit, Kraft und den finanziellen Hintergrund für diese Dissertation aufzubringen.

Für technische und fachliche Hinweise danke ich insbesondere Dipl. jur. Dina Turau und Dr. med. Zarah Mohr.

Ebenfalls seien Philipp Semerak und Benjamin Chen für den technischen Support gedankt.

Allen denen sei ein Dankeschön ausgesprochen, die nicht namentlich Erwähnung fanden, aber zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

10. Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Vornamen : Raoul Günther Xavier
 Nachname : Mohr
 Geburtsdatum : 22. Juni 1982
 Geburtsort : Woluwe-Saint-Lambert / Belgien
 Wohnsitz : Stratenborg 29c, 22393 Hamburg

Berufstätigkeit

Seit 08/2007 : Vorbereitungsassistent in der Praxis Dr. Siedler / Klinik
 Klosterstern, Klosterstern 8, 20149 Hamburg

Dissertation

07/2005 : Beginn mit den Arbeiten an einer Dissertation
 (experimentell) am Institut der Biochemie und
 Molekularbiologie II, Universitätsklinikum Hamburg –
 Eppendorf, Leitung Prof. Dr. physiol. Dr.h.c. Beisiegel.

Ausbildung

03/2007 - 07/2007 : Prüfung zum Staatsexamen,
Abschlussnote „gut“

2004 - 2007 : Fortsetzung des Studiums am Universitätsklinikum
 Hamburg-Eppendorf

2004 : Zwischenprüfung: Zahnärztliche Vorprüfung,
Abschlussnote „gut“

2003 - 2004 : Fortsetzung des Studiums am Universitätsklinikum
 Hamburg-Eppendorf

2003 : Zwischenprüfung: Naturwissenschaftliche Vorprüfung
 für Zahnärzte,
Abschlussnote „gut“

2002 - 2003 : Studium der Zahnmedizin am Universitätsklinikum
 Hamburg-Eppendorf

Zivildienst

2001 - 2002 : Kirchengemeinde Winterhude Uhlenhorst, Hamburg

Schulbildung

1992 - 2001 : Gymnasium Oberalster, Hamburg

11. Publikation

Scheja L, Toedter K, **Mohr R**, Niederfellner G, Michael M, Meissner A, Schoettler A, Pospisil H, Beisiegel U, Heeren J. (2008) Liver triacylglycerol transiently decreases while hepatic phospholipid n-3 and n-6 fatty acid content is persistently elevated in insulin resistant mice. Eingereicht bei Lipids.

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift : Raoul Mohr

Datum : 12.11.2008