

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

**Einfluss des
fatty acid binding protein 2-Gen-Polymorphismus (Ala54Thr)
auf die orale Glukosetoleranz
bei Patienten mit gemischter Hyperlipoproteinämie.**

Dissertation zur
Erlangung des Grades
eines Doktors der Medizin, dem
Fachbereich Medizin der Universität Hamburg
vorgelegt von

Daniel W. Kidder
aus Bern

Hamburg 2009

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 19.04.2010

Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, die Vorsitzende: Prof. Dr. Dr. Ulrike Beisiegel

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter: Prof. Dr. F. U. Beil

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter: Prof. Dr. F. Rinninger

I. Einleitung

1.	Einführung in das Thema	Seite 5
2.	Intestinal fatty acid binding protein	Seite 6
3.	Insulin	
3.1.	Struktur und Biosynthese	Seite 7
3.2.	Physiologie	
3.2.1	Glukoregulation im Hungerzustand	Seite 7
3.2.2.	Postprandiale Glukoregulation	Seite 8
3.3.	Insulinwirkung auf den Glukosetransport	Seite 9
4.	Insulinresistenz	
4.1.	Definition der Insulinresistenz/HOMA-IR	Seite 11
4.2.	Klinische Bedeutung der Insulinresistenz	Seite 14
4.3.	Pathogenese der Insulinresistenz	
4.3.1.	Insulinrezeptor-Defekt	Seite 13
4.3.2	Postinsulinrezeptor-Defekte	
4.3.2.1.	IRS-1-Gen-Polymorphismus	Seite 14
4.3.2.2.	Verminderte GLUT4-Synthese	Seite 14
4.3.2.3.	Beeinträchtigte intrazelluläre Translokation von GLUT4	Seite 15
4.3.3.	Erhöhte Konzentration freier Fettsäuren	Seite 16
4.3.4.	FFA und der Glukosemetabolismus der Muskulatur	Seite 16
4.3.5.	Einfluss von Adipozytokinen auf die IR	Seite 18
4.3.5.1.	Adiponectin	Seite 19
4.3.5.2.	Resistin	Seite 19
4.3.5.3.	Leptin	Seite 20
5.	Das metabolische Syndrom	
5.1.	Historische Entwicklung	Seite 20
5.2.	Kriterien für die Diagnose des MetS	Seite 20
5.3.	Prävalenz und klinische Folgen des MetS	Seite 22
5.4.	Pathogenese des MetS	Seite 23
6.	Diabetes mellitus	
6.1.	Klassifikation	Seite 25
6.2.	Definition	Seite 25
6.3.	Pathogenese des Typ-2-Diabetes mellitus	Seite 26
6.3.1.	Defizitäre Insulinwirkung	Seite 28
6.3.2.	Defizitäre Insulinsekretion	Seite 29
6.3.3.	Einfluss erhöhter FFA auf die Insulinsekretion	Seite 30
7.	Lipoproteine	Seite 30
8.	Triglyceride	Seite 33
9.	Apolipoprotein E	Seite 33
10.	Ziel der Arbeit	Seite 36

II. Material und Methoden

1.	Patienten	Seite 37
2.	Retrospektive Studie	Seite 37
3.	Blutentnahme und -verarbeitung	Seite 38
4.	Oraler Glukosetoleranz-Test	Seite 39
5.	Chemische und biochemische Analysen	
5.1.	Bestimmung von Glukose, Insulin und C-Peptid	Seite 39

5.2.	Lipoprotein-Analytik	Seite 40
5.3.	Freie Fettsäuren	Seite 40
5.4.	ApoE-Phänotypisierung	Seite 40
6.	Molekularbiologische Analytik	
6.1.	DNA-Extraktion und ApoE-Genotypisierung	Seite 40
6.2.	PCR	Seite 41
6.3.	Restriktionsvorgang (Verdau)	Seite 43
6.4.	Polyacrylamid-Elektrophorese	Seite 45
6.5.	Ethidiumbromid-Färbung	Seite 46
7.	Datenverarbeitung	Seite 46

III. Ergebnisse

1.	Charakterisierung der Patienten	
1.1.	Alter und Geschlecht	Seite 47
1.2.	Vergleich zwischen Akten- und FFA-Patientenkollektiv	Seite 48
2.	Vergleich NGT vs. IGT	
2.1.	BZ (OGTT) im Gesamtkollektiv (n = 96)	Seite 49
2.2.	NGT vs. IGT im FFA-Kollektiv (n = 25)	
2.2.1.	Glukose	Seite 50
2.2.2.	Insulin	Seite 51
2.2.3.	C-Peptid	Seite 52
2.2.4.	HOMA-IR	Seite 53
2.2.5.	Triglyceride und freie Fettsäuren	Seite 55
3.	Einfluss des FABP2-Genotyps auf Glucose und Triglyceride im Gesamtkollektiv (n = 101)	Seite 56
3.1.	Einfluss des Genotyps im FFA-Kollektiv (n = 25)	
3.1.1.	Glukose	Seite 57
3.1.2.	Insulin	Seite 58
3.1.3.	C-Peptid	Seite 59
3.1.4.	HOMA-IR (n = 39)	Seite 61
3.1.5.	Triglyceride	Seite 65
3.1.6.	Cholesterin	Seite 65
3.1.7.	Freie Fettsäuren	Seite 65
4.	Thr54-Allelfrequenzen im Gesamt-Kollektiv	Seite 70
5.	Wertetabellen	Seite 73

IV. Diskussion

1.	Fallzahlen und Patienten-Kollektive	Seite 81
2.	Glukose-Messung	Seite 82
3.	Vergleich zwischen NGT- und IGT-Gruppe	Seite 83
4.	Thr54-Allelfrequenz	Seite 84
5.	FABP2-Genotyp und Glukosestoffwechsel	Seite 85
6.	FABP2-Genotyp und Fettstoffwechsel	Seite 89

V. Zusammenfassung	Seite 92
---------------------------	----------

VI. Abkürzungen	Seite 93
------------------------	----------

VII. Abbildungsverzeichnis	Seite 95
VIII. Literaturverzeichnis	Seite 96
IX. Danksagung	Seite 110
X. Lebenslauf	Seite 111

I. Einleitung

1. Einführung in das Thema

Die geschätzte Zahl von erwachsenen Diabetikern wird weltweit von 189 Millionen (im Jahre 2003) auf 324 Millionen (im Jahre 2025) ansteigen [Zimmet et al. 2001]. Seine Prävalenz wird geschätzt auf 4,0 % (1995) und 5,4 % (2025). Der größte Teil der Diabetiker lebt in Entwicklungsländern: 1995: 62,5 %, 2025: 75 % [King et al. 1998].

Die Zunahme der Prävalenz ist zu erklären durch zunehmende körperliche Inaktivität, Überernährung, Adipositas, sowie eine höhere Lebenserwartung.

Eine Früherkennung von möglichen Diabetikern ist wichtig, da die Prävention eines Diabetes mellitus Typ 2 durch Änderung des Lebensstils und pharmakologische Intervention nachgewiesen werden konnte [Tuomilehto 2001, Chiasson et al. 2002].

Da eine Insulinresistenz/metabolisches Syndrom einem Diabetes mellitus Typ 2 vorausgeht [DeFronzo et al. 1997] und freie Fettsäuren (FFA) eine wichtige pathogenetische Rolle bei der Entwicklung einer Insulinresistenz spielen [Roden et al. 1996], könnte das fatty acid binding protein 2-Gen ein Kandidatengen sein, das die Entstehung eines Diabetes mit beeinflusst und daher zur Früherkennung dient. Beim FABP2-Gen-Polymorphismus (Ala54Thr) wurden erhöhte FFA-Spiegel beobachtet [Pratley et al. 2000].

Bis zum Beginn dieser Untersuchung postulierten vier Arbeiten einen Zusammenhang zwischen Ala54Thr und einer Insulinresistenz bei japanischen Männern [Yamada et al. 1997], Pima-Indianern [Baier et al. 1995, Humphreys et al. 1994] und aus Mexiko stammenden US-Amerikanern [Mitchell et al. 1995]. Eine multizentrische Studie an jungen, gesunden und männlichen Europäern zeigte jedoch keinen Zusammenhang zwischen diesem Polymorphismus und einer pathologischen Glukosetoleranz, bzw. einer Insulinresistenz [Tahvanainen et al. 2000]. Ziel dieser Arbeit war, ein in der Abstammung möglichst homogenes, aus dem Gebiet der Bundesrepublik Deutschland stammendes, kaukasisches Probandenkollektiv mit gemischter Hyperlipoproteinämie erstmals auf diese Assoziation zu untersuchen. Darüber hinaus sollte sie uns eine Wertung der Widersprüchlichkeit früherer Studien ermöglichen, da in einigen anderen Arbeiten kein Zusammenhang zwischen dem Thr54-Allel und einer Insulinresistenz

gefunden werden konnte [Pihlajamäki et al. 1997, Hayakawa et al. 1999, Ito et al. 1999].

Bei der Auswertung von Daten aus einer Pilotstudie (30 Probanden mit gemischter Hyperlipoproteinämie (HLP)) unseres Labors, bei der ebenfalls ein oraler Glukosetoleranz-Test (OGTT) und eine FABP2-Gen-Typisierung durchgeführt worden war, zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen dem Thr54-Allel und einer pathologischen Glukosetoleranz in Form signifikant höherer Werte im Zwei-Stunden-Wert des OGTT.

Ziel dieser Arbeit war, zu überprüfen, ob sich diese Beobachtung in einem größeren Probandenkollektiv bestätigen würde.

Im Folgenden wird der theoretische Hintergrund zu Fettsäure-bindenden Proteinen, Insulin, zum metabolischen Syndrom, Diabetes mellitus Typ 2 und die jeweilige Rolle der Insulinresistenz vorgestellt. Außerdem werden die Insulinwirkung, die Verbindung zwischen Glukose- und Fettstoffwechsel (freie Fettsäuren, Randle-Zyklus) sowie einige andere Mess- und Einflussgrößen (Lipoproteine, Triglyceride, Apolipoprotein E) erläutert, die im Rahmen dieser Arbeit (patho-) physiologisch wichtig sind.

2. Intestinal fatty acid binding protein

Fatty acid binding proteins (FABPs oder Fettsäure-bindende Proteine) kommen in vielen Geweben vor: Sie spielen eine Rolle beim Transport und Stoffwechsel von ungesättigten und gesättigten, langkettigen Fettsäuren z. B. im Darm (Aufnahme von Fettsäuren), in der Skelett-/Herzmuskulatur, der Niere und im Gehirn (Verbrauch von Fettsäuren) [Schleicher et al. 1995]. Der genaue Wirkmechanismus ist nicht bekannt [Vassileva et al. 2000].

Das FABP2-Gen auf Chromosom 4q28-31 codiert für intestinales FABP (IFAPB), welches ausschließlich in Dünndarm-Enterozyten exprimiert wird [Lowe et al. 1987]. Da dieses Protein (Molekülgröße 15 Kilodalton) in vitro mit großer Affinität langkettige Fettsäuren nichtkovalent bindet, wird vermutet, dass seine Stoffwechsel-Funktion darin liegt, diese im Zytoplasma von Enterozyten zu binden und zu transportieren [Pratley et al. 2000]. 1995 entdeckten Baier et al. eine Mutation (G → A) im Codon 54 des FABP2-Gens [Baier et al. 1995]. Aufgrund der Häufigkeit dieser Mutation spricht man hier von einem Polymorphismus (das Vorhandensein mehrerer Zustandsformen (Allele) für ein Gen in einer bestimmten

Frequenz (> 1 %)). Dieser Polymorphismus im Codon 54 des FABP2-Gens führt entweder zur Synthese von alanin- (Wildtyp), oder threoninhaltigem Protein (Mutante: Ala54Thr). Im Vergleich zu alaninhaltigem IFABP hat threoninhaltiges IFABP eine doppelt so große Affinität zu langkettigen Fettsäuren [Baier et al. 1995].

3. Insulin

3.1. Struktur und Biosynthese

Insulin ist ein Peptidhormon mit einem Molekulargewicht von 5,8 Kilodalton. Es besteht aus zwei längeren Polypeptiden, einer A-Kette mit 21 und einer B-Kette mit 30 Aminosäuren. Die beiden Ketten sind durch zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden [Stryer 1991].

Insulin wird in den B-Zellen der pankreatischen Langerhansschen Inseln gebildet. Aus Präproinsulin (bestehend aus einer Signalsequenz, der B-Kette, dem C-Peptid (connecting peptide), sowie der A-Kette) entsteht im endoplasmatischen Retikulum durch Abspaltung der Signalsequenz Proinsulin und schließlich Insulin durch Abspaltung des C-Peptids. Das C-Peptid ist physiologisch inaktiv und wird verglichen mit Insulin in equimolarer Menge freigesetzt. Die C-Peptid-Konzentration kann mittels Radioimmunoassay bestimmt werden, deren Höhe gibt Aufschluss über die B-Zell-Funktion [Ganong et al. 1999].

3.2. Physiologie

3.2.1. Glukoregulation im Hungerzustand

Die physiologische Rolle von Insulin kann anhand zweier ausgewählter Stoffwechselbedingungen skizziert werden: Nüchternzustand und postprandiale Situation.

Der Nüchternzustand ist charakterisiert durch eine zentralnervös gesteuerte Hyperglukagonämie und Hypoinsulinämie [Starke 1996].

Glukagon ist ein Peptid, das in den A-Zellen der pankreatischen Langerhansschen Inseln gebildet wird. Seine Ausschüttung wird z. B. durch Hypoglykämie und Abfall der freien Fettsäuren stimuliert. Seine Wirkung zielt auf die Mobilisierung von Energiesubstraten (= Deassimilation): Glukagon fördert unter anderem die Glykogenolyse, die Lipolyse und die Bildung von Ketonkörpern aus Fettsäuren [Deetjen 1994]. Die Wirkungen von Insulin und Glukagon sind weitgehend

antagonistisch, Insulin steuert also die Assimilation, d. h. Glukose wird von insulinabhängigen Geweben aufgenommen und abgebaut oder gespeichert [Starke 1996].

Im Nüchternzustand muss der Efflux von Glukose in die insulinabhängigen Gewebe Muskulatur und Fett vermindert werden, um die begrenzte Glukose für den lebenswichtigen, kontinuierlichen (5 - 6 g Glukose pro Stunde) Verbrauch im Gehirn einzusparen.

In der Leber erfolgt nach 12 - 18 Stunden Abbau des Leber-Glykogens die Umschaltung auf hepatische Glukoneogenese und Ketogenese durch hohe Glukagon- und niedrige Insulinspiegel. Vermittelt wird diese Umschaltung auch durch freie Fettsäuren [Starke 1996].

Eine erniedrigte Serum-Insulinkonzentration führt zur Freisetzung freier Fettsäuren aus Adipozyten, die in der Leber zu Ketonen umgewandelt werden, gleichzeitig über den so genannten Randle-Zyklus durch Substrathemmung der Glykolyse die periphere Glukose-Utilisation verlangsamen, also den Blutglukose-Spiegel erhöhen (Details siehe 4.3.4). Eine erhöhte Serum-Glukagonkonzentration hat den gleichen Effekt [Starke 1996].

3.2.2. Postprandiale Glukoregulation

Ziel der postprandialen Glukoregulation ist die Limitierung des Blutglukose-Anstiegs nach der Mahlzeit. Die Blutglukose-Konzentration erreicht postprandial ein Maximum um 180 mg/dl und befindet sich beim Gesunden nach ca. zwei Stunden wieder auf präprandialem Niveau [Starke 1996]. Erreicht wird die Senkung des Blutglukose-Spiegels durch eine Stimulation der Insulinsekretion mit nachfolgend gesteigerter Glukoseaufnahme in Muskulatur und Fettgewebe: Glukose wird über Transporter (Typ GLUT2) in die pankreatischen β -Zellen aufgenommen und verstoffwechselt. Das dabei erzeugte ATP bewirkt eine Schließung von ATP-sensitiven Kalium-Kanälen, wodurch das Membranpotential der β -Zellen sinkt. Diese Depolarisation führt zur Öffnung spannungsabhängiger Calcium-Kanäle, dadurch erhöht sich der intrazelluläre Calcium-Spiegel, der die Exozytose von Insulin auslöst [Doenecke 2005].

Außerdem wird durch den Insulinanstieg die hepatische Glukoseproduktion gehemmt. Induziert wird die Insulinsekretion zentralnervös (in Erwartung eines Einstroms von Glukose) und durch die Sekretion zwischengeschalteter Inkretine,

als Beispiele seien GIP (gastric inhibitory peptide) und GLP-1 (glucagon-like peptide 1) genannt [Starke 1996].

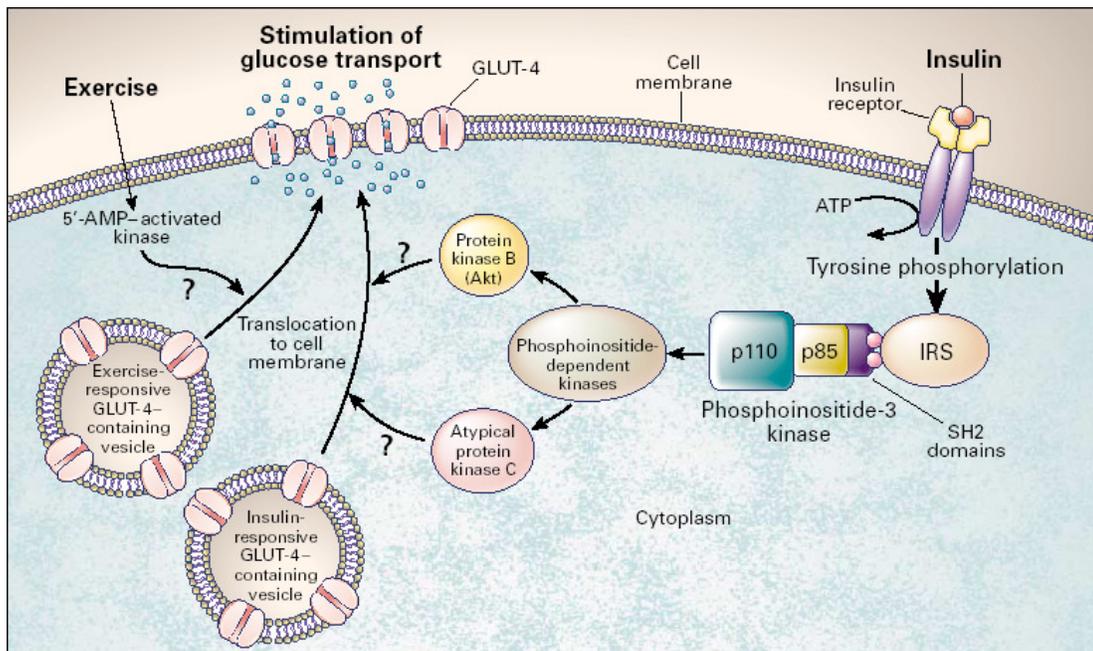
3.3. Insulinwirkung auf den Glukosetransport

Damit der menschliche Körper gut funktionieren kann, muss der Blutglukose-Spiegel in engen Grenzen, d. h. zwischen 60 und 180 mg/dl gehalten werden. Dies wird vermittelt durch einen hormonell präzise eingestellten Regelkreis. Während Hungerperioden wird Glukose hauptsächlich von der Leber bereitgestellt und insulinunabhängig vom Gehirn verbraucht. Nach einer Mahlzeit stimuliert der Blutzucker-Spiegel die Insulinsekretion mit der Folge eines gesteigerten Glukosetransports, -Metabolismus und -Speicherung durch Myo- und Adipozyten. Dabei wird der Plasmaglukose-Spiegel durch Insulin gesenkt. Weil die Lipid-Doppelmembranen der Zellen impermeabel für Kohlenhydrate sind, sind Kohlenhydrat-Transportsysteme notwendig. Zwei Gruppen sind heute bekannt: erstens der Natrium-Glukose-Cotransport, begrenzt auf Darm und Nieren, der die Energie für den aktiven Glukosetransport entgegen einem Gradienten aus der natriummotorischen Kraft gewinnt [Wright et al. 1991]. Die zweite Gruppe von Transportern benutzt das Prinzip der erleichterten Diffusion entlang einem Glukosegradienten und besteht aus fünf homologen, transmembranären Proteinen - GLUT1,2,3,4,5 - die von verschiedenen Genen kodiert werden und sich in Substratspezifität, kinetischen Eigenschaften und Gewebe-Ständigkeit unterscheiden.

GLUT4 ist der wichtigste insulinabhängige Glukosetransporter und ist hauptsächlich in Myo- und Adipozyten lokalisiert [Shepherd et al. 1999]. Dort unterliegt GLUT4 einem Kreislauf zwischen Plasmamembran und intrazellulären Speichervesikeln. GLUT4 unterscheidet sich von anderen Glukosetransportern dadurch, dass sich in Abwesenheit von Insulin oder anderer Stimuli, wie z. B. körperlicher Anstrengung, 90 % intrazellulär befinden [Kandror 1996]. Unter dem Einfluss von Insulin (oder anderer Stimuli) wandert GLUT4 verstärkt aus den Speichervesikeln an die Plasmamembran. Dadurch nimmt die maximale Geschwindigkeit des Glukose-Einstroms in die Zelle zu [Kandror 1996]. Die intrazelluläre Bewegung von GLUT4 wird eingeleitet durch die Bindung von Insulin an den extrazellulären Anteil des transmembranären Insulinrezeptors (siehe Abb. 1 aus Shepherd et al. 1999). Der nun aktivierte Insulinrezeptor wirkt als Enzym.

Die Skelettmuskulatur ist in vivo der stärkste insulinvermittelte Glukoseverbraucher. Es wird verhältnismäßig weniger Glukose in Adipozyten transportiert [DeFronzo et al. 1997].

Abb. 1: PI3K-abhängige Insulin-Signalkette



Schema der PI3K-abhängigen Insulin-Signalkette, die den Glukosemetabolismus in Myo- und Adipozyten reguliert: GLUT4 ist in intrazellulären Vesikeln gespeichert. Insulin bindet an seinen Rezeptor in der Plasmamembran und führt dadurch zur (Auto-) Phosphorylierung des Insulinrezeptors und der Insulinrezeptor-Substrate, wie z. B. der IRS-Moleküle. Diese Substrate formen Komplexe mit Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) an ihrer 85 kd-Untereinheit (p85) über SH2(Scr homology region 2)-Domänen. Dann bindet p85 die katalytische Untereinheit p110. Die aktive Form der PI3K (PI3P) aktiviert Phosphatidylinositol-abhängige Kinasen, die wiederum Protein-Kinase B (PKB) und atypische Protein-Kinase C (aPKC) aktivieren. Körperliche Anstrengung stimuliert den Glukosetransport unabhängig von PI3K, eine Rolle spielt hier wahrscheinlich eine 5'-AMP-aktivierte Kinase [aus Shepherd et al. 1999].

Diese Rezeptorbindung aktiviert die Tyrosin-Kinase-Aktivität am zytosolischen Anteil des Rezeptors durch Autophosphorylierung; er kann nun die Phosphorylierung von Tyrosinresten in Zielproteinen katalysieren [Stryer 1991]. Die Hauptsubstrate dieser Tyrosin-Kinase sind unter anderem Insulinrezeptor-Substrat-Moleküle (IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4) [Holman 1997]. Sowohl in der Skelettmuskulatur, als auch in den Adipozyten ist der nächste Schritt zum insulinstimulierten Glukosetransport in die Zellen die Aktivierung der

Phosphatidylinositol 3-Kinase [Shepherd et al. 1998]. Dieser Schritt ist zumindest teilweise direkt für die Verlagerung von GLUT4 an die Plasmamembran verantwortlich [Tanti et al. 1997]. Phosphatidylinositol 3-Kinase (PI3K) aktiviert über Phosphatidylinositol-abhängige Kinasen auch Protein-Kinase B (eine Serin-Threonin-Kinase) und atypische Protein-Kinase C [Alessi et al. 1997, Standaert et al. 1997]. Die Zielproteine am Ende der PI3K-Signalkette wurden noch nicht identifiziert, ihre Rolle liegt wahrscheinlich darin, ein Andocken der GLUT4 enthaltenden Vesikel an die Plasmamembran und die Verschmelzung mit ihr herbeizuführen [Shepherd et al. 1999].

Wahrscheinlich existiert noch eine zweite, parallele Signalkette: Es wurde nachgewiesen, dass aktivierte PI3K (PIP3) alleine nicht ausreicht, um GLUT4 an die Plasmamembran zu bewegen [Isakoff et al. 1995]. Im Mittelpunkt dieser 2. Signalkette, die in der Nähe von caveolae (50 - 100 nm durchmessende Invaginationen der Plasmamembran) [Anderson 1998] lokalisiert ist, scheint die GTPase TC10 aus der Rho-Familie zu stehen [Watson et al. 2001].

4. Insulinresistenz

4.1. Definition der Insulinresistenz

Die Insulinresistenz wurde erstmals von Himsworth beschrieben, der zeigte, dass eine Form des Diabetes mellitus assoziiert ist mit einer Unempfindlichkeit gegen Insulin [Himsworth 1936].

Man spricht von einer Insulinresistenz, wenn unter physiologischen Bedingungen die Antwort auf einen Insulinreiz fehlt, oder vermindert ausfällt [Janka 1996]. Gemeint ist damit die Ganzkörper-Insulinresistenz als in vivo messbare Summe der Insulin-Effekte an den einzelnen Organen. So kann z. B. die gemessene (Ganzkörper-) Insulinsensibilität stark erniedrigt sein, obwohl die Insulinsensibilität im Fettgewebe erhöht ist [Hansen 1999].

Im Folgenden werden die Auswirkungen der Insulinresistenz im Glukose-metabolismus der Myozyten, der Adipozyten und der Leber betrachtet.

Goldstandard ihrer Ermittlung ist die technisch sehr aufwändige euglykämische clamp-Technik. Als Maß dient die Glukoseinfusionsrate (M-Wert) unter artifiziell hyperinsulinämischen, euglykämischen Bedingungen [Lillioja et al. 1991].

Apparativ sehr aufwändig ist auch der computergestützte intravenöse Glukose-toleranz-Test, das so genannte minimal model [Martin et al. 1992].

Ein zuverlässiges, etabliertes [Bonora et al. 2000] und das am häufigsten verwendete [Stern et al. 2005] Ersatzverfahren zur Bestimmung der in vivo-Insulinresistenz beim Menschen ist HOMA-IR (homeostatis model assessment for insulin resistance). HOMA-IR lässt sich durch eine einfache Formel berechnen, in die Nüchtern-Plasmaglukose und Nüchterninsulin eingehen [Mathews et al. 1985, Bonora et al. 2000]:

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

oder

$$\text{HOMA-IR} = \text{Nüchterninsulin } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Nüchternglukose } (\text{mg/dl}) / 405$$

Nüchtern-Plasmaglukose und Nüchterninsulin korrelieren also positiv mit einer Insulinresistenz. Hohe HOMA-IR-Werte entsprechen einer niedrigen Insulinsensibilität. Die Einheit ist $\mu\text{U} \times \text{mmol/l}^2$ und wird im Folgenden weggelassen.

Die Auswertung der San Antonio Heart Study ergab Anhalt dafür, dass HOMA-IR-Werte nur in ethnisch homologen Kollektiven vergleichbar sind [Haffner et al. 1997].

Heute ist für HOMA-IR ein Normalwert von ≤ 2 akzeptiert, eine IR ist wahrscheinlich bei Werten $> 2,5$ sowie ein T2-DM bei Werten > 5 [Hedblad et al. 2000].

4.2. Klinische Bedeutung der Insulinresistenz

Viszerale Adipositas ist assoziiert mit Insulinresistenz und dem metabolischen Syndrom [Golay et al. 1990, Montague 2000]. Es wurde noch nicht nachgewiesen, dass die Adipositas vom abdominellen Typ für die Insulinresistenz verantwortlich ist; auch ist noch nicht gesichert, wie diese beiden Störungen kausal zusammenhängen. Ein mögliches fehlendes Glied sind die freien Fettsäuren (FFA), da adipöse Menschen erhöhte FFA-Spiegel aufweisen [Gorden 1960] und akut erhöhte Plasma-FFA-Spiegel dosisabhängig eine Insulinresistenz bei Diabetikern und Nichtdiabetikern hervorrufen [Roden 1996].

Man schätzt, dass ungefähr 25 % der US-amerikanischen Bevölkerung an den Folgen einer Insulinresistenz leiden [Ford 2002]. Die wichtigsten sind in Tabelle 1 aufgeführt und machen deutlich, dass die Insulinresistenz und ihre assoziierten

Störungen als Risikofaktoren für die Entwicklung einer KHK genauso ernst genommen werden müssen, wie z. B. die Hypercholesterinämie [Reaven 2002].

Tab. 1: Insulinresistenz und assoziierte Störungen

- Hyperglykämie
 - ↑ Nüchtern glukose oder
 - ↓ Glukosetoleranz
- Gestörter Harnsäure-Metabolismus
 - ↑ Harnsäure-Konzentration im Plasma
 - ↓ renale Harnsäure-Exkretion
- Dyslipidämie
 - ↑ Triglyceride
 - ↑ postprandiale Lipämie
 - ↓ HDL-Cholesterin
 - ↓ LDL-Partikeldichte
- Hämodynamik
 - ↑ Sympathikus-Aktivität
 - ↑ renale Natrium-Retention
 - ↑ Blutdruck (≈ 50 % der Hypertoniker sind insulinresistent)
- Hämostase
 - ↑ Plasminogenaktivatorinhibitor (PAI) 1
 - ↑ Fibrinogen
- Endotheliale Dysfunktion
 - ↑ Monozyten-Adhäsion
 - ↑ zelluläre Adhäsionsproteine
 - ↓ endotheliale Vasodilatation

Versuch der Gliederung Insulinresistenz-/Hyperinsulinämie-assoziierter Störungen. ↑ = positive, ↓ = negative Korrelation mit einer Insulinresistenz [Reaven 2002].

Größte klinische Aufmerksamkeit verdient die Insulinresistenz neben der Bedeutung als Risikofaktor für eine KHK dadurch, dass mehrere Prospektiv- und Longitudinalstudien nachgewiesen haben, dass sie am Anfang der Entwicklung eines Diabetes mellitus steht [Lillioja et al. 1993, Saad et al. 1991, Weyer et al. 2000].

4.3. Pathogenese der Insulinresistenz

4.3.1. Insulinrezeptor-Defekt

Der so genannte Kandidatengen-Ansatz geht von der Hypothese aus, dass alle Glieder der Insulinsignal-Transduktionskette Verursacher einer zellulären Insulinresistenz sein könnten. Auf der Stufe des Insulinrezeptors konnte lediglich

in einer holländischen Population eine diskrete Häufung eines Insulinrezeptor-Polymorphismus (Prävalenz 5,6 %) bei Typ-2-Diabetikern gefunden werden [Hart et al. 1996].

Mutationen im Insulinrezeptor-Gen sind also zu selten, um alleine oder hauptmaßgeblich die Pathogenese der Insulinresistenz erklären zu können [Pessin 2000].

4.3.2. Postinsulinrezeptor-Defekte

4.3.2.1. IRS-1-Gen-Polymorphismus

Von Pedersen und Mitarbeitern wurde ein Polymorphismus für das IRS-1-Gen beschrieben, der funktionell relevant für die Signalübertragung auf die PI3-K (siehe Abb. 1) zu sein scheint [Almind et al. 1993]. Der IRS-1-Polymorphismus wurde bei 10 % Typ-2-Diabetikern und bei 5 % Nichtdiabetikern gefunden. Interessant ist die Beobachtung, dass die Kombination dieses IRS-1-Gen-Polymorphismus mit Adipositas zu einer Häufung des Auftretens eines Typ-2-Diabetes mellitus führt [Kellerer 1999].

4.3.2.2. Verminderte GLUT4-Synthese

In verschiedenen Krankheitsbildern, die eine Insulinresistenz beinhalten, gibt es in der Muskulatur und im Fettgewebe (siehe Tab. 2) Abweichungen von der normalen Expression des GLUT4-Gens [Abel et al. 1996, Kahn 1992]. Die Konzentration von GLUT4 ist erniedrigt in Adipozyten von Adipösen, Menschen mit einer IGT oder Typ-2-Diabetikern; die GLUT4-Konzentration ist jedoch nicht erniedrigt in Skelettmuskelzellen von Adipösen, Menschen mit Typ 1- oder 2-Diabetes, Gestationsdiabetes, oder von insulinresistenten Verwandten von Typ-2-Diabetikern [Abel et al. 1996, Kahn 1992]. Da die Skelettmuskulatur der größte insulinvermittelte Glukoseverbraucher ist, kann die Ganzkörper-Insulinsensitivität in diesen Fällen nicht durch eine erniedrigte Synthese von GLUT4 erklärt werden. Abnehmende GLUT4-Spiegel scheinen viel mehr in der mit fortschreitendem Alter abnehmenden Insulinsensibilität eine Rolle zu spielen [Abel et al. 1996, Kahn 1992].

Tab. 2: GLUT4 unter ausgewählten Bedingungen

Bedingung	GLUT4-Konzentration	
	Skelettmuskulatur	Fettgewebe
Typ-1-Diabetes mellitus	↔	?
Typ-2-Diabetes mellitus	↔	↓
insulinresistente Verwandte von Typ-2-Diabetikern	↔	?
Adipositas	↔	↓
Gestationsdiabetes	↔	↔ oder ↓
Alter	↓	?
Urämie	↔	?
Polyzystisches Ovarialsyndrom	?	↓
körperliche Ertüchtigung	↑	?
Sulfonyl-Harnstoff-Therapie	↔	?
Gewichtsabnahme	↔	?

Veränderungen der Konzentrationen von GLUT4 und GLUT4-Messenger-RNA unter verschiedenen Bedingungen beim Menschen. ↔ bedeutet keine Veränderung, ↑ mäßige Zunahme, ↓ mäßige Abnahme, ? keine Daten. Daten aus [Abel et al. 1996], Darstellung nach [Shepherd et. al. 1999].

4.3.2.3. Beeinträchtigte intrazelluläre Translokation von GLUT4

Bei Adipösen und Typ-2-Diabetikern ist das verminderte Ansprechen der insulinstimulierten Glukose-Aufnahme assoziiert mit einer Abnahme der Translokation von GLUT4 aus den intrazellulären Vesikeln an die Plasmamembran [Zierath et al. 1996]. Da in diesem Kollektiv die GLUT4-Konzentration in der Skelettmuskulatur normal ist, liegt nahe, dass die Insulinresistenz Folge eines Defekts in der Insulin-Signalkette ist, die die Bewegung von GLUT4 an die Membranoberfläche steuert, oder aber dass die Bildung, das Andocken oder die Verschmelzung der GLUT4 enthaltenden Vesikel mit der Plasmamembran nicht mehr fehlerfrei funktioniert [Rea 1997]. Letzteres verliert dadurch an Bedeutung, dass der Glukosetransport in insulinresistentem Muskel durch Inhibition der Serin-Thyrosin-Phosphatasen und Tyrosin-Kinasen ganz normal aktiviert werden kann [Carey et al. 1995]. Diese Inhibition scheint die

Aktivierung der distalen Komponenten der Insulin-Signalkette länger aufrechtzuerhalten [Shepherd 1999].

Der Defekt scheint also doch weiter proximal in der insulinstimulierten Kaskade zu liegen.

4.3.3. Erhöhte Konzentration freier Fettsäuren

Der Großteil (> 80 %) der Typ-2-Diabetiker in den USA sind übergewichtig [Mokdad et al. 2000] und vor allem adipöse Typ-2-Diabetiker weisen eine konstant erhöhte Plasma-Konzentration freier Fettsäuren auf, die sie weder durch Nahrungsaufnahme, orale Glukosebelastung [Reaven et al. 1988], noch durch Insulin [Boden 2002] supprimieren können. Ähnliche Störungen im Metabolismus freier Fettsäuren konnten bei Menschen mit einer IGT und bei nichtdiabetischen, insulinresistenten Adipösen nachgewiesen werden [Golay et al. 1988]. FFA werden in Adipozyten als Triglyceride gespeichert und dienen im Hungerzustand als Energiequelle. Insulin ist ein wirkungsvoller Inhibitor der Lipolyse [Groop et al. 1989]; es hemmt die hormonsensitive Lipase und damit die Freisetzung von FFA aus den Adipozyten. Bei Typ-2-Diabetikern ist diese Insulinwirkung deutlich beeinträchtigt [Groop et al. 1989].

Man weiß heute, dass chronisch erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren sowohl die Muskulatur, als auch die Leber insulinresistent werden lassen, also eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Insulinresistenz und des Diabetes mellitus Typ 2 spielen [Golay et al. 1988, DeFronzo et al. 1997, Boden 2002].

4.3.4. FFA und der Glukosemetabolismus der Muskulatur

Vor über vier Jahrzehnten folgerte Randle nach Experimenten an Zwerchfell und Herz der Ratte, dass erhöhte Oxidation von FFA den Glukoseabbau im Muskel durch Veränderung des Redoxpotentials der Zelle und durch Inhibition glykolytischer Schlüsselenzyme behindert [Randle et al. 1963]. Durch gesteigerte FFA-Oxidation reichert sich erstens intrazellulär Acetyl-CoA an, ein starker Inhibitor der Pyruvat-Dehydrogenase und nimmt zweites der NADH/NAD⁺-Quotient zu, wodurch der Citratzyklus verlangsamt abläuft und das angehäuften Citrat die Phosphofruktokinase (PFK) inhibiert [Randle et al. 1963]. Diese Inhibition der PFK führt zu einer Produkthemmung der ersten Schritte der Glykolyse, dadurch häuft sich Glukose-6-Phosphat (G-6-P) an, welches die

Hexokinase (HK) hemmt. Durch diese Blockierung der Glukose-Phosphorylierung reichert sich intrazelluläre Glukose an [Randle et al. 1963], die den Transport weiterer Glukosemoleküle via GLUT4 behindert [Bays et al. 2004]. Der reduzierte Glukosetransport führt zu verminderter Glykogen-Synthese, außerdem wurde ein direkt inhibitorischer Effekt von Acyl-CoA auf die Glykogen-Synthetase nachgewiesen [Wititsuwannakul 1977].

Diese Abfolge von Ereignissen, in der eine verstärkte Oxidation von Plasma-FFA den Glukosetransport in die Muskulatur, die Glykolyse und die Glykogensynthese hemmt, wird Randle-Zyklus genannt [Randle et al. 1963].

In neueren Untersuchungen an humanen Myozyten gelang es jedoch nicht, nach einer Lipidinfusion erhöhte Spiegel von Glukose-6-Phosphat und Citrat, oder eine Hemmung der Phosphofruktokinase nachzuweisen [Boden et al. 1994, Roden et al. 1999].

Man geht heute davon aus, dass ein anderer Mechanismus als eine Produkthemmung (durch erhöhtes G-6-P) für die Defizite in Transport und Phosphorylierung von Glukose, sowie in der Glykogensynthese verantwortlich ist. In verschiedenen Studien wurde eine stark negative Korrelation zwischen insulinstimuliertem Glukosemetabolismus und vergrößerten intramuskulären Lipid-Konzentrationen, wie von Triglyceriden [Jacobs et al. 1999, Krssak et al. 1999], Diacylglycerol (DAG) [Itani et al. 2002] und langkettigem Fettsäure-CoA (FA-CoA) [Ellis et al. 2000] nachgewiesen. Eine akute Erhöhung der Plasma-FFA-Konzentration führt im Muskel zu einer erhöhten Konzentration von DAG und FA-CoA, die beide Protein-Kinase C θ aktivieren [Kelley 2000]. Dadurch nimmt die Serin-Phosphorylierung mit nachfolgender Inhibition der Tyrosin-Phosphorylierung am IRS-1 zu [Faergeman 1997] (siehe Abb. 2). Passend zu dieser Beobachtung hemmt sowohl eine akute (vier Stunden), als auch eine chronische (fünf Tage) Erhöhung der FFA im Plasma die insulinstimulierte Tyrosin-Phosphorylierung am IRS-1, die Bindung der p85-Untereinheit der PI3K an IRS-1 (siehe Abb. 1) und die Aktivierung der PI3K in menschlichen Skelettmuskelzellen [Dresner et al. 1999, Kruszynska et al. 2002]. Es wurde auch ein direkter Effekt von langkettigem FA-CoA auf den Glukosetransport [Thompson 2000], die Glukose-Phosphorylierung [Tippett 1982] und auf die Glykogen-Synthase im Muskel [Wititsuwannakul 1977] nachgewiesen (siehe Abb. 2).

auch eine endokrinologische Dysfunktion des Adipozyten: Einige Faktoren werden vermindert (z. B. Adiponectin), andere verstärkt (z. B. Resistin, Interleukine, Leptin) freigesetzt [Bays et al. 2004].

4.3.5.1. Adiponectin

Adiponectin zeichnet sich durch zwei Besonderheiten aus: erstens wird es nur in Adipozyten exprimiert und von dort in die Blutlaufbahn sezerniert. Zweitens ist es der einzig bekannte, von Adipozyten freigesetzte Faktor, der die Insulinempfindlichkeit erhöhen kann [Yamauchi et al. 2001]. Dessen Plasma-Konzentration ist bei Typ-2-Diabetikern und Adipösen deutlich vermindert und korreliert stark negativ mit der Insulinresistenz der Skelettmuskulatur [Weyer et al. 2001] und der Leber [Bajaj et al. 2004]. Kultivierte Adipozyten steigern nach Zugabe von Insulin die Expression von Adiponectin [Scherer et al. 1995]. Die Insulinresistenz ihrer Adipozyten könnte also der Grund für die niedrigeren Adiponectin-Plasmaspiegel von Typ-2-Diabetikern sein.

4.3.5.2. Resistin

Resistin ist ein noch nicht lange bekanntes Protein, das in Präadipozyten entdeckt wurde. Es führt tierexperimentell appliziert zu Insulinresistenz [Steppan et al. 2001]. Die Neutralisation von Resistin durch Antikörper führt zu einer Abnahme der Plasma-Glukosekonzentration [Steppan et al. 2001] und in vitro zu verstärkter insulinstimulierter Glukoseaufnahme [Lazar 2002]. Bei Typ-2-Diabetikern und Adipösen ist der Resistin-Plasmaspiegel erhöht und die Expression in Adipozyten verstärkt [Wang et al. 2002]. Bei Typ-2-Diabetikern korreliert der Resistin-Spiegel stark positiv mit der hepatischen, nicht aber mit der muskulären Insulinresistenz [Smith et al. 2002]. Da Insulin die Expression von Resistin hemmt [Hartmann et al. 2002] und Typ-2-Diabetiker trotz zwei- bis vierfach erhöhter Nüchterninsulin-Spiegel [DeFronzo 1988, 1997] erhöhte Resistin-Spiegel aufweisen [Smith et al. 2002], mag man folgern, dass ihre Adipozyten auch resistent gegen den hemmenden Effekt Insulins auf die Resistin-Expression sein könnten [Bays et al. 2004].

4.3.5.3. Leptin

Leptin wird ausschließlich von Adipozyten produziert und sezerniert und wirkt auf den Appetit zügelnd [Halaas et al. 1995]. Menschen, die kein Leptin exprimieren, entwickeln durch Hyperphagie eine deutliche Adipositas [Montague et al. 1998], bei Mäusen ist beides durch Gabe des Zytokins reversibel [Kamohara et al. 1997]. Beim Menschen sind Mutationen des Leptins und des Leptinrezeptor-Gens assoziiert mit deutlicher Adipositas, Glukose-Intoleranz und Insulinresistenz [Clement et al. 1998], die sich im Falle der Leptin-Defizienz durch Ersatz erfolgreich behandeln lassen [Farooqi et al. 1999].

5. Das metabolische Syndrom

5.1. Historische Entwicklung

Gerald Reaven hat das Konzept des Syndrom X im Sinne häufig gemeinsam auftretender kardiovaskulärer Risikofaktoren wie pathologische Glukosetoleranz (IGT = impaired glucose tolerance), arterielle Hypertonie, Hypertriglyceridämie und erniedrigter HDL-Cholesterin-Spiegel wieder aufgegriffen [Reaven 1988]. Dieses Syndrom wurde erstmals in den 1920-er Jahren beschrieben als gleichzeitiges Auftreten von arterieller Hypertonie, Hyperglykämie und Gicht [Kylin 1923]. Im Laufe der Zeit wurde dieses Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämiesyndrom um einige Facetten erweitert wie Adipositas vom abdominellen Verteilungsmuster, Mikroalbuminurie, Störungen der Fibrinolyse und Gerinnung [Björntorp 1994, Groop et al. 1993, Mykkänen et al. 1998, Yudkin 1999] und firmierte unter vielen verschiedenen Namen: metabolisches Syndrom, plurimetabolisches Syndrom, tödliches Quartett (The Deadly Quartet), Insulinresistenz-Syndrom, Diabesity, The Big 4, Trisyndrome Métabolique und eben Syndrom X [Hanefeld 1981, DeFronzo 1991, Kaplan 1989, Hansen 1999]. Vor allem als Insulinresistenz-Syndrom war es in der Literatur sehr häufig anzutreffen, vor allem aufgrund der Annahme, dass die Insulinresistenz eine zentrale Rolle der Pathogenese dieses Syndromes innehat [Modan et al. 1985].

5.2. Kriterien für die klinische Diagnose des metabolischen Syndroms

Die Bedeutung und die klinischen Kriterien des metabolischen Syndroms sind wie oben geschildert nicht statisch und werden noch viele Konferenzen, Ausschüsse etc. beschäftigen. Es werden hier nur die beiden heute populärsten Definitionen

vorgelegt. 1998 schlug die WHO eine vereinheitlichende Definition vor und entschied sich für die Bezeichnung als metabolisches Syndrom, statt Insulinresistenz-Syndrom, da man es nicht als erwiesen betrachtete, dass sich alle Komponenten dieses Syndroms in der Insulinresistenz ergründeten.

Klinische Kriterien gemäß WHO 1998 [Alberti 1998]: Ein Kandidat hat ein metabolisches Syndrom, wenn er hyperglykämisch (IGT oder T2DM) oder insulinresistent ist und jeweils mindestens zwei der folgenden Kriterien erfüllt:

1. Arterieller Hypertonus, d. h. bestehende antihypertensive Therapie und/oder erhöhter Blutdruck (≥ 160 mmHg systolisch oder ≥ 90 mmHg diastolisch).
2. Dyslipidämie im Sinne einer Hypertriglyceridämie (≥ 150 mg/dl) und/oder eines erniedrigten HDL-Cholesterin-Spiegels (Männer < 35 mg/dl, Frauen < 39 mg/dl).
3. Adipositas, d. h. BMI > 30 kg/m² und/oder WHR (= Quotient aus Taillen- und Hüftumfang) $> 0,90$ bei Männern, $> 0,85$ bei Frauen.
4. Mikroalbuminurie, definiert als Albuminurie zwischen 30 und 300 mg/24h.

2001 wurde im Adult Treatment Panel III (ATP III) im Rahmen des US-amerikanischen National Cholesterol Education Program (NCEP) eine neue, einfachere Definition vorgeschlagen [NCEP 2002]. Ein Kandidat hat ein metabolisches Syndrom gemäß ATP III, wenn er drei oder mehr der folgenden Kriterien erfüllt:

1. Abdominelle Adipositas: Hüftumfang > 102 cm bei Männern, > 88 cm bei Frauen.
2. Hypertriglyceridämie ≥ 150 mg/dl
3. HDL-Cholesterin < 40 mg/dl bei Männern, < 50 mg/dl bei Frauen
4. Arterieller Blutdruck $\geq 135/85$ mmHg
5. Nüchtern-Glukose ≥ 110 mg/dl.

5.3. Prävalenz und klinische Folgen des metabolischen Syndroms

Angaben zur Prävalenz schwankten in früheren Studien erheblich, wahrscheinlich aufgrund einer bis dahin fehlenden, gemeinhin akzeptierten Definition dieses Syndroms [Bonora et al. 1998, Rantala et al. 1999].

Eine große amerikanische Studie zwischen 1988 und 1994 mit über 8800 zufällig ausgewählten Teilnehmern älter als 20 Jahre zeigt eine Prävalenz von 25,1 % für das metabolische Syndrom gemäß WHO-Richtlinien und 23,9 % gemäß ATP III. Ganz bemerkenswert und US-spezifisch scheint in dieser Studie auch die hohe Prävalenz einer Adipositas vom abdominellen Typ (gemäß WHO) mit einer waist-to-hip ratio $> 0,90$ bei 72,3 % der teilnehmenden Männer und $> 0,85$ bei 49,6 % der teilnehmenden Frauen. Legt man die Daten der Volkszählung aus dem Jahre 2000 zugrunde, haben ca. 47 Millionen US-Bürger, also 22 % der Erwachsenen das MetS. Entsprechend erfüllt ein Drittel der übergewichtigen US-Amerikaner die ATP III-Diagnosekriterien [Ford 2002, 2003]. Ferrannini schätzt, dass nur ca. 30 % der Erwachsenen keines der 4 Kardinalkriterien des Syndroms aufweisen [Ferrannini et al. 1991].

In Europa scheint das metabolische Syndrom seltener zu sein: Lakka et al. fanden in einem Kollektiv von über 1200 finnischen Männern (Ausschluss bekannter Gefäßkrankheiten, Diabetes oder Malignome) im Alter von 42 und 60 Jahren eine Häufigkeit zwischen 9 und 14 %, je nach Definition. Die kardiale Mortalität der Männer mit MetS gemäß ATP III war zwischen drei- und viermal höher, gemäß WHO ca. dreimal höher [Lakka et al. 2002].

Eine finnisch-schwedische Studie über 7 Jahre ($n = 4480$) erbrachte folgende Prävalenzen für das metabolische Syndrom: 10 % der Männer, 15 % der Frauen mit NGT, 42 % der Männer, 64 % der Frauen mit IFG oder IGT und 78 % der Männer, 84 % der Frauen mit T2DM. Teilnehmer mit dem Syndrom hatten dreimal häufiger eine KHK, dreimal häufiger ischämische Insulte und eine insgesamt fast sechsmal höhere kardiovaskuläre Mortalität [Isomaa et al. 2001].

So fordert Reaven, der Vorsitzende des ATP III, für Patienten mit einem MetS dieselbe therapeutische Aufmerksamkeit, wie für Patienten mit einer manifesten KHK [Larkin 2001].

Außerdem korrelierte bei Teilnehmern der Framingham-Studie die Diagnose eines MetS gemäß ATP III mit einer sehr guten Vorhersagbarkeit für einen neu auftretenden Diabetes mellitus. Fast die Hälfte des beeinflussbaren Risikos für die

Entwicklung eines Diabetes mellitus konnte durch die Anwesenheit eines MetS gemäß ATP III erklärt werden. Neben KHK und Diabetes prädestiniert das MetS für das Syndrom der polyzystischen Ovarien, Fettleber, Cholesterin-Gallensteine, Asthma, Schlafstörungen und einige Neoplasien [Grundy et al. 2004].

Zusammenfassend lässt sich also feststellen, dass das metabolische Syndrom sehr häufig vorkommt und einen bedeutenden Risikofaktor für kardiovaskuläre Krankheiten und die Entwicklung eines Diabetes mellitus darstellt im Sinne eines Multiplikators der Gefährlichkeit seiner einzelnen Komponenten.

5.4. Pathogenese des metabolischen Syndroms

Ursächlich für das metabolische Syndrom scheinen mehrere Faktoren zu sein. Diese sind z. T. beeinflussbar und Folge des heutigen, meist hohen Lebensstandards: körperliche Inaktivität, unangemessene Kalorienzufuhr (Hyperphagie, zu hoher Fettanteil in der Nahrung), exzessiver Alkoholkonsum, Rauchen und längere Lebenserwartung (middle age onset). Männer sind häufiger betroffen als Frauen; das könnte mit dem bei Männern dominierenden abdominalen Fettverteilungsmuster zusammenhängen, das die Ausprägung des metabolischen Syndroms zu verstärken scheint. Schließlich besteht eine genetische Prädisposition [Grundy 1998, Hansen 1999].

Die Insulinresistenz hat im metabolischen Syndrom eine zentrale Bedeutung: Es gibt Anhalt dafür, dass die meisten Symptome des Syndroms Folge einer gemeinsamen genetischen Ursache sind, und dass es sich hierbei um die Insulinresistenz in Verbindung mit einem Hyperinsulinismus handeln könnte [Reaven 1996]. Auch der Hyperinsulinismus könnte eine Folge der Insulinresistenz sein: Das Überangebot von Lipiden an die Skelettmuskulatur vermindert deren Insulinsensitivität [Randle et al. 1994], andererseits führt die Hypertriglyceridämie in den pankreatischen β -Zellen tierexperimentell zu einer überschießenden, dem Blutglukose-Spiegel nicht angemessenen Insulinproduktion [Lee et al. 1994].

Dieses Gedankenmodell soll im Folgenden kurz dargestellt werden.

Pathologische Glukosetoleranz: Eine IGT tritt auf, wenn in einem insulinresistenten Organismus die Insulinmenge nicht mehr ausreicht, um eine Euglykämie herzustellen, also zur IR ein Insulin-Sekretionsdefekt hinzu kommt [Reaven et al. 1989, DeFronzo et al. 1997].

Hyperlipidämie: Im Status der Insulinresistenz kann Insulin die Freisetzung von freien Fettsäuren aus den Adipozyten nicht mehr ausreichend supprimieren [Mostaza et al. 1998]. Ein Überangebot von Lipiden, die Derivate der freien Fettsäuren sind, führt in verschiedenen Geweben zu alteriertem Stoffwechsel. In der Leber zum Beispiel, werden dann verstärkt Lipoproteine, sowie hepatische Triglyceridlipase synthetisiert [Grundy 1998]. Außerdem wird in der Hyperinsulinämie die LDL-Rezeptoraktivität stimuliert und der HDL-Rezeptor gehemmt [Standl 1996]. All dies führt zur Lipidtrias (dichte LDL-Partikel, erniedrigtes HDL-Cholesterin und Hypertriglyceridämie) und damit zur Atherosklerose [Austin 1996, 2000].

Arterieller Hypertonus: Erklärung einerseits durch die Atherosklerose (siehe oben). Der direktere Einfluss von Insulin auf den arteriellen Hypertonus ist immer noch unklar. Nur unter der Annahme, dass die Zielgewebe des Insulins, die der Blutglukose-Homöostase dienen, resistent gegen dessen Wirkung sind, nicht aber Gewebe, die Einfluss auf den Blutdruck haben, könnte eine Insulinresistenz den Blutdruck über mindestens vier verschiedene Mechanismen erhöhen [Williams 1998]. Erstens führt eine Hyperinsulinämie zu renaler Natriumretention [DeFronzo 1991]. Insulin wirkt zweitens vasokonstriktiv über eine gesteigerte Sympathikus-Aktivität [Anderson et al. 1991]. Drittens hypertrophiert im tierexperimentellen in-vitro-Versuch die glatte Gefäßmuskulatur unter Insulin-Einfluss [Stout 1975]. Viertens modifiziert Insulin an der Ratten-Aorta den transmembranären Ionen-transport, wodurch der zytosolische Calciumspiegel - und damit der Gefäßtonus - ansteigt [Ohara et al. 1991].

Noch ist nicht gesichert, wie die Adipositas vom stammbetonten Typ und die Insulinresistenz kausal zusammenhängen. Die Adipositas scheint der Insulinresistenz voranzugehen. Seit 50 Jahren ist bekannt, dass nicht die Gesamtmenge des Körperfetts, sondern seine Verteilung das koronare Risiko determiniert [Vague 1956]. Vor allem die stammbetonte (auch androide oder männliche) Fettverteilung, die bei Frauen ab einer WHR > 0,85 und bei Männern > 0,90 definiert ist, gilt als risikobehaftet [Fontbonne et al. 1989]. Dabei interferiert das intraabdominelle, viszerale Fett mit der Glukoseverwertung auf unterschiedliche Weise: Viszerales Fett ist im Gegensatz zu Hüftfett sehr stoffwechselaktiv, es wird bereits durch geringe Lipolysereize abgebaut. Die dadurch gesteigerte Konzentration von FFA im portalvenösen Blut führt zu einer

verringerten hepatischen Insulinextraktion und damit zur peripheren Hyperinsulinämie [Standl 1995]. Gleichzeitig reduziert das Überangebot an FFA die hepatische und muskuläre Insulinsensitivität, der Stoffwechsel verlagert sich dort - entsprechend dem Randle-Zyklus - auf den Abbau von FFA [Rett et al. 1994].

6. Diabetes mellitus

6.1. Klassifikation

Der Diabetes mellitus lässt sich vereinfacht wie folgt klassifizieren [Foster 1999]:

1. Typ-1-Diabetes (früher IDDM, Typ I) durch β -Zelldestruktion, die üblicherweise zur absoluten Insulindefizienz führt.
2. Typ-2-Diabetes (früher NIDDM, Typ II) mit 3-phasigem Krankheitsverlauf: von einer Insulinresistenz über einen sekretorischen Defekt zur Hyperglykämie.
3. Andere spezifische Typen, z. B. durch genetische Defekte der β -Zellfunktion, der Insulinwirkung; Krankheiten des exokrinen Pankreas (z. B. Pankreatitis), Endokrinopathien (z. B. Cushing), medikamenteninduziert (z. B. Glukokortikoide), durch Infekte (z. B. Röteln), andere genetische Syndrome, die mit Diabetes vergesellschaftet sind (z. B. Down-Syndrom).
4. Gestationsdiabetes (GDM).

Der Typ-2-Diabetes überwiegt mit einem Anteil von ungefähr 90 % [Foster 1999] und wird im Folgenden kurz vorgestellt.

6.2. Definition des Diabetes mellitus

Heute existieren zwei Richtlinien nebeneinander, die sich vor allem in der Bedeutung der beiden Parameter Nüchtern-Plasmaglukose und 2-Stundenwert im oralen Glukosetoleranz-Test (OGTT) unterscheiden. Nüchtern ist definiert als eine Periode von acht Stunden ohne Nahrungsaufnahme. 1997 veröffentlichte die American Diabetes Association (ADA) ihre Kriterien zur Diagnose eines Diabetes mellitus [Expert Committee on the Diagnosis of Diabetes Mellitus 1997]. Kernpunkt ist die im Vergleich zur alten Richtlinie der World Health Organization [WHO 1985] niedrigere Nüchtern-Plasmaglukose von 126 mg/dl gegenüber 141 mg/dl. Die Bedeutung der FPG (fasting plasma glucose) wurde also deutlich aufgewertet, um mehr undiagnostizierte, asymptomatische Diabetiker zu erfassen als bislang, da

der OGTT aufwendig und für den Patienten unangenehm ist und deswegen zu selten angewandt wird [Gabir et al. 2000]. Die Prävalenz eines undiagnostizierten DM ist durch die Anwendung der ADA-Richtlinien zwar niedriger im Vergleich zu den 1985-er WHO-Richtlinien [Harris et al. 1997], jedoch soll dieser Verlust durch eine bessere Anwendbarkeit der neuen Richtlinien mehr als aufgewogen werden [Expert Committee on the Diagnosis of DM 1997].

Tab. 3: Kriterien für einen Diabetes mellitus

Glukose (mg/dl)		
	nüchtern	OGTT (nach 2 Stunden)
normal	< 110	< 140
IGT	110 - 125	140 - 199
Diabetes mellitus	≥ 126	≥ 200

Diagnostische Kriterien des Diabetes mellitus gemäß ADA 1997 und WHO 1999. Werte für venöses Plasma.

1999 überarbeitete die World Health Organization (WHO) ihre Richtlinien von 1985 und passte sich bezüglich der Nüchtern-Plasmaglukose der ADA an. Auch sie fordert jetzt beim Diabetiker eine Nüchtern-Plasmaglukose von über 126 mg/dl (vorher von über 141 mg/dl). Die Empfehlung zur Durchführung eines OGTT bei Patienten mit einer pathologischen Glukosetoleranz (IGT, d. h. Nüchtern-Plasmaglukose zw. 110 und 125 mg/dl) wird im Gegensatz zur ADA beibehalten, ebenso der alte 2-Stunden Grenzwert von 200 mg/dl [WHO 1999].

6.3. Pathogenese des Typ-2-Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus Typ 2 steht am Ende eines chronisch-progressiven Geschehens (tip of the iceberg, siehe Abb. 3) im Sinne einer schrittweise abnehmenden Glukosetoleranz. Dieser Prozess beansprucht typischerweise zahlreiche Jahre [Pratley et al. 2000] und ist gekennzeichnet durch eine defizitäre Insulinwirkung und Insulinsekretion [DeFronzo et al. 1997]. Insulinresistenz, also verminderte Insulinwirkung ist assoziiert mit Adipositas vom abdominellen Typ [Montague 2000] und einer intramyozellulären Akkumulation von Triglyceriden [Stein et al. 1997]. Chronisch erhöhte Plasmaspiegel freier Fettsäuren (FFA)

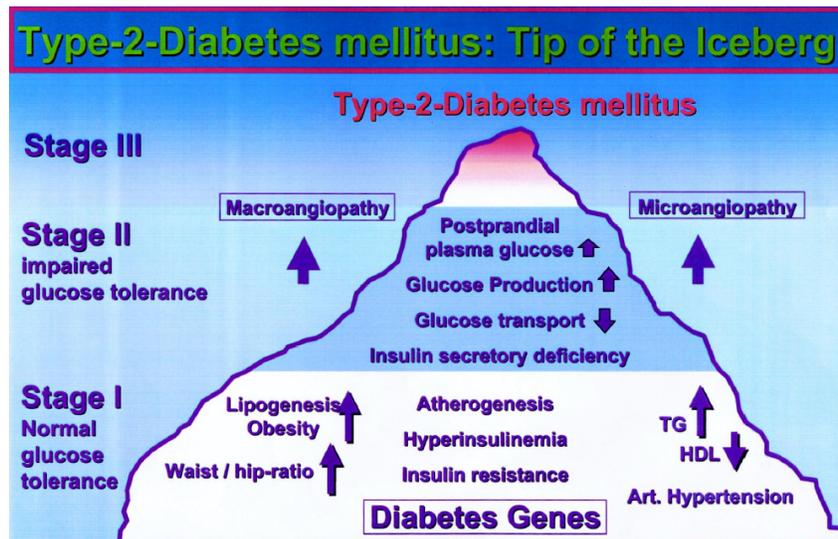
spielen sowohl eine Hauptrolle in der Pathogenese der Insulinresistenz [Roden et al. 1996], als auch eine Nebenrolle in der Pathogenese verminderter Insulinsekretion [Kashyap et al. 2002].

Verminderte Insulinwirkung und -sekretion werden durch Umgebungsfaktoren (virale Infekte?), beeinflussbare Risikofaktoren (z. B. Rauchen, Adipositas, Hyperphagie, Bewegungsmangel), sowie genetische Faktoren, die noch nicht sicher identifiziert sind, beeinflusst [DeFronzo et al. 1997, Bell 2001]. Auch der Plasmaspiegel der freien Fettsäuren steht unter dem Einfluss gewisser Risiko- und genetischer Faktoren.

Zur Zeit wird noch kontrovers diskutiert, welche dieser erstgenannten Störungen die primäre ist, in welcher zeitlichen Abfolge sie auftreten, bzw. wie groß deren relative Bedeutung zu einem bestimmten Zeitpunkt ist [Gerich 1998, Ferrannini 1998]. Am Ende dieses Prozesses steht die Hyperglykämie, hervorgerufen durch kompromittierte periphere Glukoseaufnahme und eine verstärkte endogene Glukoseproduktion [Bogardus 1984].

Eine mögliche und populäre [Saad 1991] zeitliche Abfolge ist in Abb. 3 dargestellt. Die Pathogenese des T2DM verläuft dabei in drei klinischen Phasen: In der ersten Phase herrscht trotz Insulinresistenz noch eine normale Glukosetoleranz, ermöglicht durch eine kompensatorische Hochregulation der Insulinsekretion [Sims et al. 1973, Lauro et al. 1998]. Die zweite Phase ist gekennzeichnet durch eine Zunahme der Insulinresistenz mit der Konsequenz einer pathologischen Glukosetoleranz (erhöhte Blutglukose-Spiegel nach dem Essen, Prädiabetes). In der dritten Phase führt sekretorisches Versagen der pankreatischen β -Zellen zur Nüchtern-Hyperglykämie, der Typ-2-Diabetes ist manifest [Edelstein et al. 1997].

Abb. 3: Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2



Die schematische Darstellung soll eine mögliche, phasenweise Entwicklung des DM2 illustrieren [aus Matthaei et al. 2000].

6.3.1. Defizitäre Insulinwirkung

Der Einfluss erhöhter FFA-Spiegel im Plasma auf die Pathogenese der skelettmuskulären Insulinresistenz wurde bereits in Kapitel 4.3.3. behandelt.

Da neben der Skelettmuskulatur die Leber eine zentrale Rolle in der Regulation des Glukosemetabolismus spielt (siehe Kapitel 3.2.), muss auch auf die Pathogenese der hepatischen Insulinresistenz eingegangen werden.

Beim Gesunden hemmt Insulin die hepatische Glukoneogenese über die Suppression der freien Fettsäuren [DeFronzo et al. 1983]. Bei Typ-2-Diabetikern ist jedoch die FFA-Konzentration im Plasma erhöht und Lipide werden verstärkt oxidiert. Beides korreliert stark sowohl mit einer erhöhten Nüchtern-Plasmaglukose, als auch mit einer erhöhten Rate basaler hepatischer Glukoneogenese [Golay et al. 1988].

Der Zusammenhang zwischen erhöhter FFA-Plasmakonzentration, verstärkter FFA-Oxidation und hepatischer Glukoneogenese lässt sich wie folgt erklären: erstens führt ein erhöhter plasmatischer FFA-Spiegel zur verstärkten Aufnahme von FFA in die Hepatozyten, damit zu verstärkter Oxidation derselben und Akkumulation von Acetyl-CoA. Dieses große Substratangebot aktiviert Pyruvat-Carboxylase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (die geschwindigkeitsbegrenzenden Schlüsselenzyme der Glukoneogenese) [Bahl et al. 1997],

außerdem Glukose-6-Phosphatase, das geschwindigkeitslimitierende Enzym, das die Freisetzung von Glukose aus Hepatozyten ermöglicht [Massillon et al. 1997]. Zweitens stellt eine verstärkt ablaufende Oxidation von FFA der Glukoneogenese Energie in Form von ATP und reduzierten Nukleotiden (NADPH) zur Verfügung. Drittens führt ein erhöhter plasmatischer FFA-Spiegel durch Störungen in der Insulin-Signalkette zur hepatischen Insulinresistenz [Faergeman et al. 1997, Dresner et al. 1999]. Bei Typ-2-Diabetikern lässt sich neben diesen schwerwiegenden Effekten der freien Fettsäuren ein erhöhter Glukagonspiegel und eine erhöhte hepatische Glukagon-Sensibilität beobachten [Matsuda et al. 2002].

6.3.2. Defizitäre Insulinsekretion

Vor Ausprägung einer (Nüchtern-)Hyperglykämie sind Personen mit genetischer Prädisposition für die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes mellitus insulinresistent [Tripathy et al. 2000]. Trotzdem kann eine normale Glukosehomöostase durch eine gesteigerte Insulinsekretion aus den pankreatischen β -Zellen aufrecht erhalten werden [DeFronzo et al. 1997]. Im nüchternen Zustand reicht die Insulinmenge noch aus, um die hepatische Insulinresistenz aufzuwiegen: Die basale Rate der hepatischen Glukoneogenese bleibt normal. Nach einer kohlenhydratreichen Mahlzeit kann durch die hyperinsulinäme Antwort die hepatische Glukoneogenese noch normal supprimiert werden und die defizitäre Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur ausgeglichen werden [DeFronzo 1997, Tripathy et al. 2000].

Das Stadium der pathologischen Glukosetoleranz (IGT) ist erreicht, wenn durch Zunahme der muskulären und hepatischen Insulinresistenz auch die schon verstärkte Gesamt-Insulinantwort nicht mehr ausreicht, die Blutglukose nach einer Kohlenhydrataufnahme in physiologischen Grenzen zu halten [DeFronzo 1997]. In diesem Stadium ist der zeitliche Ablauf der Insulinantwort gestört: In der Frühphase der Sekretion ist die Insulinmenge vermindert, gefolgt von einer exzessiven Insulinantwort in der Spätphase [Tripathy 2000, Kahn 2001].

Das mögliche Fortschreiten der IGT zum Diabetes mellitus Typ 2 wird weniger durch eine weitere Zunahme der Insulinresistenz eingeleitet. Vielmehr lässt die Fähigkeit des Pankreas nach, eine unphysiologisch hohe Insulin-Sekretionsrate aufrechtzuerhalten [Reaven et al. 1989, DeFronzo et al. 1997]. Trägt man in einem

Diagramm die Insulinsekretion gegen die Zeit auf, in der eine anfangs gesunde Person einen T2DM entwickelt, ergibt sich das Bild einer umgedreht U-förmigen Kurve, die als die Starling-Kurve des Pankreas bezeichnet wird [DeFronzo 1988].

6.3.3. Einfluss erhöhter FFA auf die Insulinsekretion

Unger hat den Begriff Lipotoxizität geprägt, um den tierexperimentell nachgewiesenen Effekt chronisch erhöhter Plasma-FFA-Konzentrationen auf die pankreatischen β -Zellen zu beschreiben [Unger 2002]. Bei diabetischen Ratten führt eine chronische Erhöhung der FFA zur β -Zell-Apoptose mit Verlust von über 50 % der β -Zell-Masse [Unger 1997]. Ähnliche Studien können natürlich nicht in vivo am Menschen durchgeführt werden, so dass dieser molekulare Mechanismus noch unklar ist [Bays et al. 2004]. Jedoch führt eine physiologisch erhöhte Konzentration freier Fettsäuren (478 - 666 $\mu\text{mol/l}$) bei Nichtdiabetikern auch zu einer Abnahme der Insulinsekretion [Kashyap et al. 2002].

7. Lipoproteine

Da sich Glukose- und Lipidstoffwechsel gegenseitig deutlich beeinflussen, müssen die wichtigsten Lipoproteine vorgestellt werden.

Cholesterin ist eine fettähnliche Substanz (Lipid), die in Zellmembranen vorkommt. Es ist Substrat zur Synthese von Gallensäuren und Steroidhormonen. Cholesterin kommt im Blut nur in Partikeln vor, die sowohl Lipide und Proteine enthalten (Lipoproteine). Es werden drei Hauptklassen unterschieden: LDL (low density lipoprotein), HDL (high density lipoprotein) und VLDL (very low density lipoprotein). IDL (intermediate density lipoprotein) rangiert in der Dichte zwischen VLDL und LDL, zählt aber in der laboranalytischen Praxis zum LDL [NCEP 2002]. LDL-Cholesterin hat normalerweise einen Anteil von 60 - 70 % am Gesamt-Cholesterin. Es enthält nur ein Apolipoprotein, das Apo B-100 (ApoB). Wie durch zahlreiche epidemiologische Studien - z. B. die Framingham Heart Study - belegt, ist LDL ein Hauptrisikofaktor für KHK [Wilson et al. 1998].

Tab. 4: Cholesterin-Grenzwerte

Gesamt-Cholesterin (mg/dl)		LDL-Cholesterin (mg/dl)	
< 200	anzustreben	< 100	optimal
200-239	grenzwertig	100-129	fast optimal
≥ 240	hoch	130-159	grenzwertig
		160-189	hoch
		≥ 190	sehr hoch

Grenzwerte gemäß ATP III für Gesamt- und LDL-Cholesterin [NCEP 2002].

HDL-Cholesterin hat normalerweise einen Anteil von 20 - 30 % am Gesamt-Cholesterin. In den HDL-Partikeln sind hauptsächlich ApoA-I und ApoA-II enthalten. Der HDL-Cholesterin-Spiegel korreliert invers mit dem KHK-Risiko [Wilson et al. 1998]. Es gilt als bewiesen, dass HDL-Cholesterin gefäßprotektiv wirkt. Jedoch kann ein niedriger HDL-Anteil auch die Anwesenheit anderer atherogener Faktoren reflektieren [Lamarche et al. 1993].

Tab. 5: Grenzwerte für HDL-Cholesterin

HDL-Cholesterin (mg/dl)	
< 40	niedrig
≥ 60	hoch

Grenzwerte gemäß ATP III für HDL-Cholesterin. Die Werte gelten für Männer und Frauen [NCEP 2002].

Erniedrigte HDL-Spiegel können folgende Ursachen haben [Stone 1994]:

- Erhöhte Triglyceride i. S.
- Übergewicht und Adipositas
- Körperliche Inaktivität
- Rauchen
- Sehr kohlenhydratreiche Diät (> 60 % der zugeführten Energie)
- Diabetes mellitus Typ 2
- Einnahme bestimmter Medikamente: z. B. β -Blocker, anabole Steroide
- Genetische Prädisposition

VLDL ist ein triglyceridreiches Lipoprotein, das auch 10 - 15 % des Serum-Cholesterins enthält. Seine wichtigsten Apolipoproteine sind ApoB-100, ApoC-I, ApoC-II, ApoC-III und ApoE. VLDL wird in der Leber produziert und ist Vorläufer vom LDL. Einige Formen des VLDL, vor allem die VLDL remnants, scheinen ähnlich wie LDL die Entwicklung einer Atherosklerose zu begünstigen [Grundy 1989]. VLDL remnants bestehen aus teilweise abgebautem VLDL und sind sehr reich an verestertem Cholesterin. Streng genommen gehört auch IDL zu den remnant-Lipoproteinen, trotzdem ist es in der klinischen Praxis in der LDL-Fraktion enthalten.

Eine vierte Klasse von Lipoproteinen, die Chylomikronen, sind ebenfalls triglyceridreich, werden im Darm aus in der Nahrung enthaltenem Fett hergestellt und tauchen nach einer fetthaltigen Mahlzeit im Blut auf. Sie enthalten dieselben Apolipoproteine wie VLDL, außer ApoB-48 statt ApoB-100. Chylomikronenremnants haben wahrscheinlich auch ein atherogenes Potential [Sposito et al. 2004].

8. Triglyceride

Tab. 6: Grenzwerte

Triglyceride (mg/dl)	
< 150	normal
150-199	grenzwertig
200-499	hoch
≥ 500	sehr hoch

TG-Grenzwerte gemäß ATP III [NCEP 2002].

Einige Daten weisen darauf hin, dass erhöhte Triglyceride ein unabhängiger Risikofaktor für eine KHK sein könnten [Austin et al. 1998]. Dieser Nachweis ist problematisch, da erhöhte Triglyceride mit anderen Veränderungen im Lipidstoffwechsel (z. B. erhöhte remnant-Lipoproteine, dichte LDL-Partikel, erniedrigtes HDL-Cholesterin) assoziiert sind und selten isoliert auftreten [NCEP 2002]. Erhöhte Triglyceride können folgende Ursachen haben [Stone 1994]:

- Übergewicht und Adipositas
- Körperliche Inaktivität
- Rauchen
- Alkohol-Abusus
- Sehr kohlenhydratreiche Diät (> 60 % der zugeführten Energie)
- Krankheiten: Diabetes mellitus Typ 2, chronische Niereninsuffizienz, nephrotisches Syndrom
- Einnahme bestimmter Medikamente: Kortikosteroide, Protease-Inhibitoren, Östrogene, β -Blocker
- Genetische Prädisposition

9. Apolipoprotein E

Apolipoprotein E (ApoE) ist eines der 15 Apolipoproteine, die im Plasma zirkulieren und hat ein Molekulargewicht von 34 Kilodalton [Shelburne 1974]. Als Bestandteil der triglyceridreichen Chylomikronen und VLDL liegt seine Funktion im Transport wasserunlöslicher Lipide, sowie durch Interaktion mit Lipoproteinrezeptoren in der Bindung und Aufnahme dieser Partikel in die Zellen

[Beisiegel et al. 1989]. Der Hauptsyntheseort des ApoE ist die Leber [Li et al. 1988], seine Konzentration liegt bei etwa 50 µg/ml Plasma normolipämischer Menschen [Mann 1998]. Der ApoE-Plasmaspiegel wird in vivo wesentlich durch einen ApoE-Polymorphismus beeinflusst, da sich die ApoE-Isoformen in ihrer Abbaurate unterscheiden [Gregg et al. 1984].

Der ApoE-Genort hat mehrere Allele, es existiert also ein ApoE-Polymorphismus. Dieser Polymorphismus wurde durch isoelektrische Fokussierung auf Proteinebene entdeckt [Utermann et al. 1977] und auf genetischer Ebene bestätigt [Zannis, Breslow 1981]. Die drei Hauptisoformen von ApoE werden ApoE-2, E-3 und E-4 genannt. Es gibt drei homozygote (ApoE2/2, 3/3 und 4/4) und drei heterozygote Phänotypen (ApoE2/3, 2/4 und 3/4), jeweils als Produkt der Expression der entsprechenden E-Allele [Zannis, Breslow 1981]. Die Häufigkeitsverteilung der Isoformen in Deutschland ist in Tab. 7 dargestellt. Der häufigste Phänotyp ist ApoE3/3, entsprechend dem häufigsten Allel E3. ApoE-3 gilt daher als Normalform, ApoE-2 und E-4 als Varianten [Zannis, Breslow 1981]. Die drei ApoE-Allele haben einen entscheidenden Einfluss auf die Serumlipidspiegel gesunder Menschen. Im Vergleich zum E3-Allel ist ApoE-2 mit niedrigeren Cholesterin- und LDL-Cholesterin-Spiegeln und höheren Triglycerid- und ApoE-Spiegeln assoziiert. Homozygotie für das E2-Allel ist mit einer besonderen Form einer gemischten Hyperlipoproteinämie assoziiert, der Hyperlipoproteinämie Typ III (Typ III-HLP). Die Typ III-HLP ist gekennzeichnet durch Erhöhung des Cholesterins und der Triglyceride im Serum als Folge einer Erhöhung der Chylomikronen-Abbauprodukte (Chylomikronen-remnants, d. h. VLDL und IDL) [Havel 1973]. Diese remnant-Lipoproteine (β -VLDL genannt) sind reich an Cholesterin und ApoE. Patienten mit einer Typ III-HLP entwickeln aufgrund der Atherogenität dieser Partikel eine vorzeitige Arteriosklerose, v. a. in der Ausprägung einer KHK und einer arteriellen Verschlusskrankheit (AVK) [Havel 1982]. Fast alle Patienten mit einer Typ III-HLP sind homozygot für das E2-Allel; als möglicher, auslösender Defekt des ApoE-Moleküls wurde in vitro eine verminderte Bindung an den LDL-Rezeptor nachgewiesen [Weisgraber et al. 1982].

ApoE-4 ist assoziiert mit erhöhtem LDL-Cholesterin- und postprandialen Triglyceridspiegel sowie erniedrigtem HDL-Cholesterin- und ApoE-Spiegel [Rall 1992, de Knijff et al. 1994, Dallongeville et al. 1999]. Dadurch gilt ApoE-4 als

Risikofaktor für die vorzeitige Entwicklung einer KHK in bestimmten (v. a. europäischen) Populationen.

Zusammengefasst hat der ApoE-Phänotyp einen bedeutenden Einfluss auf den Serumlipid- und somit auch auf den FFA-Spiegel.

Tab. 7: ApoE-Phänotypen in Deutschland

ApoE	2/2	2/3	2/4	3/3	3/4	4/4
%	1,0	12,0	1,5	59,8	22,9	2,8

Häufigkeit (in Prozent) der ApoE-Phänotypen in Deutschland [Utermann et al. 1982].

10. Ziel der Arbeit

Die Mutation im Codon 54 des FABP2-Gens führt entweder zur Synthese von alanin- (Wildtyp), oder threoninhaltigem Protein (Polymorphismus). Im Vergleich zu alaninhaltigem IFABP hat threoninhaltiges IFABP eine doppelt so große Affinität zu langkettigen Fettsäuren [Baier et al. 1995].

Die größere Fettsäure-Affinität des Mutanten-IFABP könnte dazu führen, dass in der Nahrung enthaltene Fettsäuren verstärkt intestinal resorbiert und verstoffwechselt werden. Die verstärkte Fettsäure-Oxidation könnte für die Insulinresistenz von Pima-Indianern mit dem Thr54-Allel verantwortlich sein [Baier et al. 1995], da verstärkte Fettsäure-Oxidation die Insulinwirkung reduziert [Randle et al. 1963, Kelley et al. 1993]. Auch bei japanischen Männern mit dem Thr54-Allel fand man eine Insulinresistenz und erhöhte basale Insulinspiegel [Yamada et al. 1997].

Ziel dieser Arbeit ist es, in einem kaukasischen, deutschstämmigen Probandenkollektiv mit gemischter HLP mithilfe eines oralen Glukosetoleranz-Tests (OGTT) nach einer Assoziation zwischen Ala54Thr und einem gestörten Glukosestoffwechsel (IR oder IGT) zu suchen.

Die Vorgabe ist, möglichst viele Probanden mit einer gemischten Hyperlipoproteinämie und einer IGT einzuschließen, um (im Falle einer positiven Korrelation) möglichst viele FABP2-Genpolymorphismen zu finden.

Ziel dieser Arbeit ist auch, zu prüfen, ob in diesem Kollektiv ein additiver Effekt von ApoE-Polymorphismus und Ala54Thr auf den FFA-Spiegel (und somit auf den Glukosestoffwechsel) vorliegt.

Da die Insulinresistenz eine wichtige Rolle beim metabolischen Syndrom zu spielen scheint und einem Diabetes mellitus Typ 2 vorausgeht [Saad et al. 1989, Lillioja 1993], lautet die zentrale klinische Frage: Ist das FABP2-Gen ein Kandidatengen für die Früherkennung eines metabolischen Syndroms, oder eines Diabetes mellitus Typ 2?

II. Material und Methoden

1. Patienten

Es wurden Patienten mit folgenden Eigenschaften eingeschlossen: gemischte Hyperlipoproteinämie (d. h. Triglyceride > 200 mg/dl und Gesamtcholesterin > 200 mg/dl), ApoE Typ 2/3, 3/3, 3/4, ein normales kleines Blutbild, Euthyreose, normale Transaminasen, normale Nieren-Retentionswerte und ein Nüchtern-Blutzucker zwischen 110 und 126 mg/dl (fakultativ). Patienten mit folgenden Eigenschaften wurden ausgeschlossen: bekannter oder neu (d. h. durch den OGTT) diagnostizierter Diabetes mellitus, BMI > 40, nicht-deutsche Abstammung (d. h. Eltern und alle vier Großeltern müssen deutsch, bzw. deutschstämmig sein), Schwangerschaft, Menstruation, hormonelle Verhütungstherapie, Stillzeit, Alkoholismus, eine akute oder konsumierende Erkrankung (z. B. akuter Infekt, bekannter maligner Tumor), eine Erkrankung der Leber oder der Nieren, eine endokrine Störung sowie ApoE 2/2 oder 4/4.

Die teilnehmenden Patienten wurden zwischen August 1999 und April 2000 über die Lipidstoffwechselambulanz (während der wöchentlichen Besprechungen) der medizinischen Poliklinik des Universitätskrankenhauses Eppendorf in Hamburg (UKE) rekrutiert.

Diese Patienten wurden telefonisch kontaktiert und zum OGTT und zur Blutentnahme terminiert, beides fand in der medizinischen Poliklinik des UKE statt. Alle Patienten wurden aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Hamburg genehmigt.

Die für diese Studie wichtige Einteilung der Patienten in eine Gruppe mit normaler (NGT) und eine Gruppe mit pathologischer Glukosetoleranz (IGT) erfolgte durch den vom Zentrallabor des UKE bestimmten Zwei-Stunden-Glukose-Wert im OGTT. Wegen eines unbekanntes Messfehlers konnten diese Gruppen nicht durch die selbst gemessenen Blutglukose-Werte definiert werden (siehe Kap. IV.2.).

2. Retrospektive Studie

Wegen der geringen Fallzahl in der prospektiven Studie (n = 25), wurde der Entschluss zu einer retrospektiven (n = 76) Erweiterung gefasst. Hierzu wurden

die Patientenakten der Lipidstoffwechselambulanz der medizinischen Poliklinik des UKE ausgewertet. Die Ein- und Ausschlusskriterien galten auch hier, jedoch mit einer Ausnahme: Da die Akten keine Daten über die Abstammung enthielten, wurden nur die Patienten eingeschlossen, die die deutsche Staatsangehörigkeit und einen deutschen Familiennamen haben. Die Patienten konnten außerdem nur dann eingeschlossen werden, wenn ein OGTT vorlag und sich eine DNA-Probe zur FABP 2-Genotypisierung erfolgreich zuordnen ließ ($n = 50$), bzw. eine FABP 2-Genotypisierung schon vorgenommen worden war ($n = 26$).

Im retrospektiven Kollektiv lag die erweiterte Analytik während des OGTT nicht (FFA), bzw. nicht zu fünf verschiedenen Zeitpunkten (Glucose, Triglyceride, Cholesterin, C-Peptid, Insulin) vor.

Daraus ergeben sich zwei Patientenkollektive: erstens das (Ambulanz- oder) FFA-Kollektiv ($n = 25$), zweitens das Akten- (oder ohne FFA-) Kollektiv ($n = 76$).

3. Blutentnahme und -verarbeitung

Über eine Venenverweilkanüle wurden zum Zeitpunkt 0' zwei EDTA-Plasma-Proben und eine Serum-Probe, zu den vier späteren Zeitpunkten (30', 60', 90' und 120') je ein EDTA-Plasma- und eine Serum-Probe abgenommen und sofort auf Eis gelagert.

Nach dem OGTT wurden alle Proben über zehn Minuten bei 2500 rpm und 4 °C zentrifugiert, der Überstand abpipettiert und aliquotiert (5 x 250 µl Serum und 5 x 250 µl EDTA-Plasma pro Zeitpunkt, sowie zusätzlich 2 x 100 µl EDTA-Plasma (Zeitpunkt 0', zur ApoE-Phänotypisierung)). Dann erfolgte die Beschriftung nach folgendem Schema: fortlaufende Patientenummer, Serum/Plasma, Zeitpunkt. Die FFA- und Glukosediagnostik wurde möglichst am selben Tag durchgeführt, die restlichen Aliquots bei minus 80 °C eingefroren.

Aus der zweiten EDTA-Plasma-Probe (Zeitpunkt 0') wurden buffy coats (DNA-haltige Blutzellen) gewonnen: Hierzu wurden 2 ml Interphase (zwischen Erythrozyten und Plasma) abpipettiert, auf zwei Probengefäße verteilt und beschriftet. Die anschließende Lagerung erfolgte bei minus 20 °C.

Material:

Braunüle (Firma Braun), Sarstedt Monovette (5 ml EDTA, 10 ml Serum), Eppendorf Tubes (0,5 ml, 1,5 ml), Eppendorf Pipettenspitzen und Pipetten (1000 µl, 200 µl), Tischzentrifuge (Hettich Rotanda).

4. Oraler Glukosetoleranz-Test (OGTT)

Zum Zeitpunkt 0' Legen der Venenverweilkanüle und erste Blutabnahme. Dann orale Verabreichung des Mono- und Oligosaccharid-Gemisches in Form eines Sirups (300 ml). Das entspricht nach enzymatischer Spaltung einer Menge von 75 g wasserfreier Glukose. Die Patienten wurden angewiesen, zur Untersuchung nüchtern (d. h. ohne Frühstück) zu erscheinen sowie während der Untersuchung nicht zu essen, zu trinken oder zu rauchen. Die Untersuchung fand jeweils morgens um 07:30 Uhr statt.

Die weiteren Blutentnahmen erfolgten nach 30, 60, 90 und 120 Minuten. Verwendet wurde das Fertigpräparat Dextro O.G-T.[®] der Firma Boehringer Mannheim. Die Gruppen mit normaler (NGT) und pathologischer Glukosetoleranz (IGT) wurden durch die im Zentrallabor des UKE bestimmten 120-Minuten-Blutglukose-Werte definiert.

5. Chemische und biochemische Analysen

5.1. Bestimmung von Glukose, Insulin und C-Peptid zu allen fünf Zeitpunkten

Die Blutglukose wurde aus Serumproben bestimmt. Da hierfür hämolysereies Serum/Plasma nur max. zwölf Stunden im Kühlschrank aufbewahrt werden kann, wurde diese Bestimmung immer am Untersuchungstag durchgeführt. Verwendet wurde der kommerzielle Kit Gluco-quant[®] Glucose/HK von Böhlinger Ingelheim, gemessen wurde mit dem 150-20 Spektrophotometer der Firma Hitachi.

Insulin wurde aus Serum (je 200 µl, blasenfrei pipettiert) bestimmt. Da Insulin bei unter minus 10 °C ca. einen Monat haltbar ist, wurden die Proben gesammelt in insgesamt vier Durchgängen untersucht. Verwendet wurde das IMx System[®] Insulin und die gleichnamige Reagenzienpackung der Firma Abbott. Methode: Mikropartikel-Enzymimmunoassay (MEIA).

C-Peptid wurde mit dem DAKO C-peptide ELISA aus EDTA-Plasma bestimmt (auf einem MRX Microplate Reader der Firma Dynatech Lab.). Da ein Kit für 86 Proben ausreicht (d. h. eine Platte hat 96 Vertiefungen), wurden aus Gründen der gebotenen Wirtschaftlichkeit alle Proben am Ende der Studie mit einem Kit bestimmt, obwohl der Hersteller eine Verarbeitung der Proben nach spätestens 30 Tagen (gelagert bei unter minus 8 °C) empfiehlt. Dies erschien uns jedoch vertretbar, da C-Peptid stabil ist und die Proben durchgehend auf minus 80 °C gehalten wurden.

Da das C-Peptid keine physiologische Funktion und eine zwei- bis fünfmal längere Halbwertszeit hat als Insulin, fluktuiert die periphere Blutkonzentration weniger und ist ein verlässlicheres Maß für die pankreatische Insulinsekretion als das Insulin selbst [Gjessing et al. 1989].

5.2. Lipoprotein-Analytik (zu allen fünf Zeitpunkten)

Aus EDTA-Plasma wurden Triglyceride und Gesamtcholesterin in einem Kettenphotometer (Eppendorf 6118) unter Verwendung kommerzieller Kits der Firma Boehringer Ingelheim bestimmt:

Cholesterin: CHOL MPR 2 (CHOD-PAP-Methode)

Triglyceride: TG MPR 2 (GPO-PAP-Methode). Die Haltbarkeit der Proben beträgt vier Monate bei minus 20 °C, deswegen wurden die Proben gesammelt untersucht.

5.3. Freie Fettsäuren (FFA, zu allen fünf Zeitpunkten)

Ebenfalls mit einem Kit der Firma Boehringer Ingelheim (Freie Fettsäuren, Halbmikro-Test) wurden aus EDTA-Plasma die freien Fettsäuren bestimmt. Das Photometer (150-20 Spectrophotometer) ist von der Firma Hitachi. Die Haltbarkeit der FFA beträgt nur zwei Tage (bei minus 25 °C), deswegen wurde die Bestimmung nach Möglichkeit am Entnahmetag durchgeführt.

5.4. ApoE-Phänotypisierung (Zeitpunkt 0')

Bei allen Patienten wurde eine Bestimmung des ApoE-Genotyps und -Phänotyps durchgeführt. Im Rahmen der ambulanten Betreuung in der Lipidstoffwechselambulanz des UKE werden diese Untersuchungen bereits nach einem der ersten Besuche durchgeführt. Standen sie zum Zeitpunkt der Studie noch aus, wurden sie (durch eine MTA des UKE-Lipidstoffwechsellabors Frau Prof. U. Beisiegel) nachgeholt. Die ApoE-Phänotypisierung erfolgte durch isoelektrische Fokussierung (IEF) [Utermann et al. 1977].

6. Molekularbiologische Analytik

6.1. DNA-Extraktion und ApoE-Genotypisierung

Die ApoE-Genotypisierung wurde im Rahmen der Routinediagnostik des UKE-Lipidstoffwechsellabors durchgeführt. Dafür wurde zunächst DNA nach der

Methode von Miller extrahiert [Miller et al. 1988]: Nach Einfrieren der buffy coats bei minus 20 °C (mindestens zwei Stunden) können DNA-haltige Blutzellen von hämolysierten Erythrozyten durch eine Waschlösung getrennt werden. Die DNA-haltigen Zellen werden durch den Proteinase K-haltigen Lysis-Puffer aufgeschlossen, die Proteine abgebaut; dabei bleibt die genomische DNA intakt. Durch Salz und Ethanol wird die DNA gefällt und somit von der proteinhaltigen Lösung abgetrennt und weiter verarbeitet. Die DNA-Proben werden bei 4 °C gelagert, für einen PCR-Ansatz reicht 1 µl davon. Vor der Entnahme muss die Probe geschüttelt werden, da DNA absinkt.

Die Genotypisierung erfolgte nach der Methode von Hixson [Hixson und Vernier 1990] mit Hilfe eines Hha I-Restriktionsverdau.

Nach der ApoE-Genotypisierung wurde die dafür extrahierte DNA für die FABP 2-Genotypisierung verwendet.

6.2. PCR = polymerase chain reaction [Saiki et al. 1988]

Diese Methode erlaubt, eine große Anzahl von Kopien der Ausgangs-DNA (template) zu produzieren. Das Prinzip dieser Reaktion orientiert sich an der DNA-Replikation und verläuft in drei wesentlichen, wiederholt ablaufenden Schritten:

1. Denaturierung: Die doppelsträngige DNA (dsDNA) wird auf 94 °C erhitzt, um einzelsträngige DNA (ssDNA) zu erhalten.
2. Annealing: Die Einzelstränge werden von den Primers (Oligonukleotide) erkannt, die sich dort anlagern. Die Anlagerung komplementärer Primers an die beiden denaturierten DNA-Stränge erfolgt bei einer variablen Temperatur von 37 °C bis 68 °C. Durch die Wahl der Primer werden die Bereiche innerhalb der genomischen DNA festgelegt, die vervielfältigt werden sollen.
3. Elongation: Die Bildung eines neuen DNA-Stranges durch Einbau von dNTPs an die 3'OH-Enden der Primers erfolgt durch die Taq Polymerase (aus dem Bakterium *Thermus aquaticus*). Ihr Temperaturoptimum liegt bei 72 °C. Diese neu synthetisierten Stücke enthalten ebenfalls die Primer-Sequenz. Durch erneute Erhitzung (und damit Beginn eines neuen Zyklus) entstehen ssDNA-Stränge, die wieder von den Primers erkannt werden und es beginnt der nächste Zyklus. Als Ergebnis von n Zyklen erhält man ein theoretisches Maximum von 2^n dsDNA-Molekülen. Die Fehlerrate der Taq DNA Polymerase beträgt in vitro etwa ein

falsches pro 2×10^4 Nukleotiden, da sie nicht in der Lage ist, falsch eingebaute Nukleotide zu erkennen.

Durchführung:

Ein PCR-Ansatz (24 μ l) enthält:

- 14,4 μ l Aqua dest.
- 2,5 μ l PCR-Puffer (10 x)
- 1,0 μ l dNTP-Mix (10 mM)
- 2,5 μ l FEX-2F (forward primer)
- 2,5 μ l FEX-2R (reverse primer)
- 1,0 μ l Taq Polymerase.

Anfänglich wurden geringere Primer- und Taq Polymerase-Konzentrationen verwendet, damit wurden jedoch die Banden zu schwach.

Zur Erleichterung der Herstellung von Ansätzen wurde ein Mastermix mit 10-fachem Volumen pipettiert und dann aliquotiert. Nach Zugabe von 1 μ l der DNA-Lösung beträgt das Gesamtvolumen eines PCR-Ansatzes also 25 μ l. Anschließend wird der Reaktionsansatz mit Mineralöl überschichtet (30 - 50 μ l), um Temperaturverzüge und Kondensation zu vermeiden. Durch die Wahl der Primer FEX-2F (forward) und FEX-2R (reverse) wird nur der Bereich im Codon 54 des FABP 2-Gens amplifiziert, in dem der Polymorphismus A54T gelegen ist.

Primerstruktur (5' nach 3') für Exon 2:

FEX-2F (forward) = CACTTCCTATGGGATTTGACT und

FEX-2R (reverse) = TTGGGTAGAAAAATCAAGAATG.

Das Produkt besteht jeweils aus 274 Basenpaaren (bp).

Amplifikationsmodus:

Zyklus	1:	Denaturierung	: 5 min, 95 °C
		Annealing	: 1 min, 50 °C
		Elongation	: 1 min, 72 °C
Zyklus	2 - 35:	Denaturierung	: 1 min, 95 °C
		Annealing	: 1 min, 50 °C
		Elongation	: 1 min, 72 °C
Zyklus	36:	Denaturierung	: 1 min, 95 °C
		Annealing	: 1 min, 50 °C
		Elongation	: 10 min, 72 °C

Material:

10 x PCR-Buffer + MgCl₂ for Taq Polymerase (0,1 M Tris/HCL, 15 mM MgCl₂, 0,5 M KCl, pH 8,3; Boehringer Mannheim), Deoxynucleoside Triphosphate Set, PCR Grade (je 10 mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP, Fa. Boehringer Mannheim), Taq DNA Polymerase 1 U/μl (Boehringer Mannheim), Primer: FEX-2F, FEX-2R (Perkin Elmer), Mineralöl (Sigma). PCR-Gerät: Trio-Thermoblock (Biometra), Eppendorf Reaktionsgefäße (Heraus biofuge fresco) 1,5 ml, 0,5 ml, Eppendorf Pipetten (1000 μl, 200 μl, 100 μl, 50 μl), Eppendorf Pipettenspitzen.

6.3. Restriktionsvorgang (Verdau)

Als Restriktionsendonukleasen bezeichnet man bakterielle (rekombinierte) Enzyme, die bei dsDNA innerhalb spezifischer Basensequenzen die Phosphodiester-Bindungen spalten. Natürlicher Zweck ist der Schutz des entsprechenden Bakteriums vor artfremder dsDNA. Die Restriktionsenzyme erkennen spezifische Bindungsstellen, die als Erkennungssequenzen (recognition sequence) bezeichnet werden. Sie sind oft palindromischer Struktur.

Durch Methylierung im Bereich der Erkennungssequenz ist das Bakterium vor einem Angriff der eigenen Restriktionsenzyme geschützt.

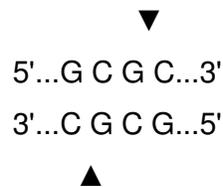
Durch Mutationen entstehen neue Schnittstellen, bzw. in der Wildtyp-DNA vorhandene Schnittstellen werden eliminiert. Die Mutation führt also zu Veränderungen im DNA-Fragmentmuster = Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP). Ist die Mutation, die Fragmentgröße und -anzahl nach

dem Restriktionsvorgang bekannt, kann diese Restriktionsendonuklease zur Identifikation der Mutation eingesetzt werden. Nach dem Verdau werden die DNA-Fragmente gelelektrophoretisch getrennt: Anhand unterschiedlicher Banden kann dann die Wildtyp-DNA von der mutierten DNA unterschieden werden.

Die Einteilung der Enzyme erfolgt in drei Gruppen: Typ I, II und III, die sich durch Cofaktoren (z. B. ATP), der Entfernung zwischen Erkennungs- und Spaltsequenz und Einteilung der Sequenzabschnitte unterscheiden.

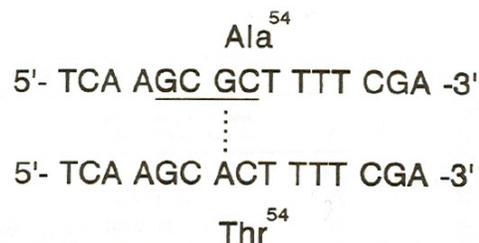
Als Restriktionsenzym wurde Hha I verwendet (produziert von *E. coli*-Stämmen, Träger eines geklonten Gens von *Hämophilus hämolyticus*), das folgende Sequenzen erkennt und spaltet (Pfeil):

Abb. 4: Hha-Spaltsequenz im FABP2-Gen



Spaltsequenz im Exon 2 des FABP2-Gens beim Restriktionsenzym-Verdau mit Hha I [aus New England BioLabs Catalog 2005/2006].

Abb. 5: Nukleotidsequenz des Thr54-Allels



Die Nukleotid-Sequenz eines Ausschnitts von Exon 2, der ein Ala54 codierendes (oben) und ein Thr54 codierendes Allel (unten) enthält. Die G zu A-Substitution ist durch eine gestrichelte Linie gekennzeichnet. Die Hha I-Erkennungssequenz ist unterstrichen [aus Baier et al.1995].

Durchführung:

Pro DNA-Produkt (25 µl, mit Mineralöl überschichtet) wurden 2 µl Hha 10 % zugegeben. Anschließend Inkubation im Brutschrank bei 37 °C auf einem Rollenmischgerät (22 rpm) über 16 Stunden.

Material:

Hha I (20.000 U/ml, New England Biolabs), Brutschrank (GFL), Rollenmischgerät.

6.4. Polyacrylamid-Elektrophorese

Durchführung:

Zusammensetzung des Polyacrylamid-Gels:

- 4880 µl Aqua dest.
- 750 µl 10 x TBE
- 1880 µl Acrylamid/Bisacrylamid (1:29)
- 100 µl Ammoniumpersulfat (AMP)
- 15 µl TEMED

Vor dem Gellauf müssen das Gel und die Gelplatten vorbereitet werden. Als Gelplatten wurden eine Spacer-Platte und eine Öhrchenplatte aus Glas verwendet, die zuvor rückstandsfrei mit 96 % Ethanol sauber gerieben wurden. Beide Platten wurden anschließend durch eine 0,8 mm Gummidichtung an drei Randseiten getrennt aufeinander gelegt. Die Ränder wurden mit Metallklemmen fixiert. Dann Zubereitung des Gels wie oben angegeben, die Zugabe von AMP und TEMED erfolgte unter einem Abzug. Jetzt wurde das Gel zwischen die Glasplatten gegossen und der Teflon-Kamm zur Aussparung der Fülltaschen eingelegt. Nach Polymerisation des Gels, Entfernung des Kammes, Spülen der Taschen mit Puffer (TBE 1 x) über eine Injektionskanüle und Entfernung der Gummidichtung wurden die Glasplatten in der Elektrophoresekammer (gefüllt mit 1 x TBE als Laufpuffer) fixiert. Die erste Tasche wurde mit einem DNA-Längenmarker (ladder DNA) gefüllt, die restlichen Taschen mit 7,5 µl eines Gemisches aus Ladepuffer (2,5 µl) und verdautem DNA-Produkt (5 µl). Nach Anlegen der Spannung betrug die Dauer des Gellaufs bei 27 mA (45 mA bei zwei Gelen) etwa zwischen 15 und 45 Minuten.

Material:

10 x TBE-Puffer (für 2l: Tris 208 g, boric acid 110 g, EDTA 0,5 M 80 ml (Merck)), Acrylamid/Bisacrylamid (1:29 (Appligene)), Ammoniumpersulfat (10 % (Serva)), TEMED (Serva), 1 x TBE-Puffer (0,09 M tris borate, 0,002 M EDTA), 6 x Ladepuffer (1 x TBE, 40 % Glycerol, Bromphenolblau (Merck)), Ladder DNA (1kb, 1 µl/µg (Gibco/BRL)); Netzgerät, Elektrophoresekammer, Spacer-, Ohrchenplatte, Teflon-Kämme, Gummidichtung (jeweils von Biometra).

6.5. Ethidiumbromid-Färbung

Dazu wurde das Gel etwa 10 - 20 min in einer wässrigen Lösung aus 2,5 µl Ethidiumbromid/100 ml Aqua dest. auf einem Schüttler bewegt. Dann Sichtbarmachen der DNA-Banden durch UV-Licht bei einer Wellenlänge von 254 - 300 nm und photographische Dokumentation mit einer Instant-Kamera (s. Abb. 26).

Material:

Ethidiumbromid (Sigma), UV-Transluminator (Biometra), Instant Kamera (Polaroid).

7. Datenverarbeitung

Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung gezeigt, soweit nicht anders angegeben. Statistische Signifikanz für verbundene Daten wurde mit dem Student's t-Test geprüft. Mit dem Mann-Whitney-U-Test wurde gearbeitet, wenn wegen einer zu niedrigen Fallzahl die Stichproben nicht normalverteilt vorlagen. Unterschiede mit einem p-Wert $< 0,05$ wurden als statistisch signifikant akzeptiert. Alle Berechnungen wurden auf einem handelsüblichen PC unter Verwendung von Statistica V 5.1 (Firma Statsoft[®]) durchgeführt.

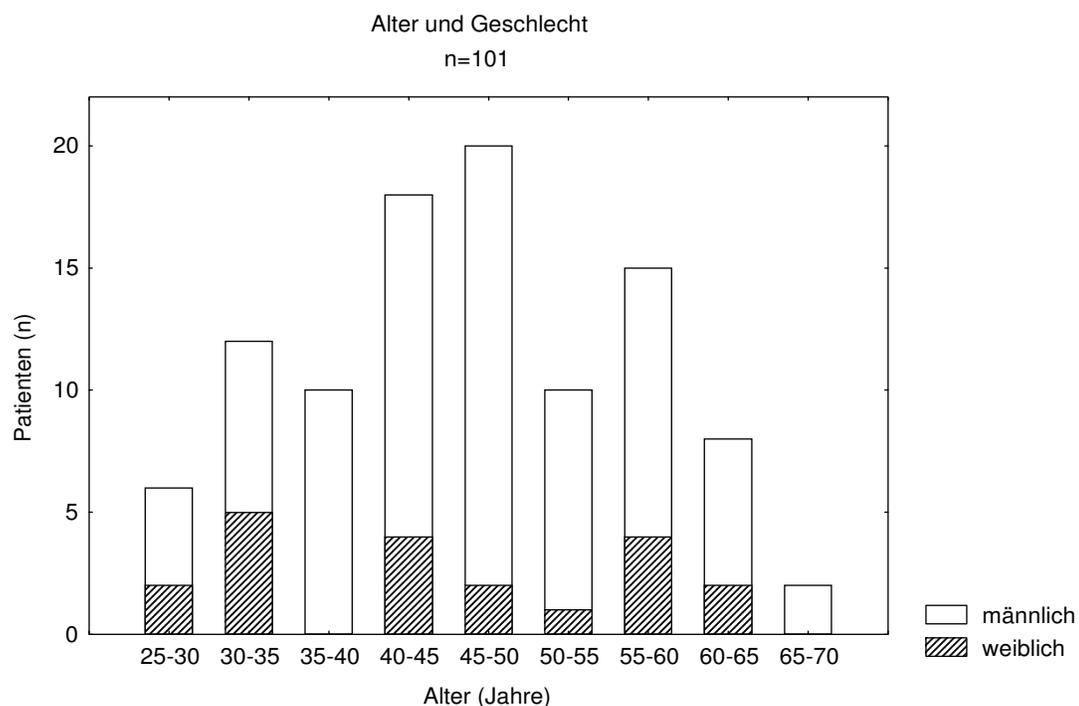
III. Ergebnisse

1. Charakterisierung der Patienten

1.1. Alter und Geschlecht

Insgesamt wurden 101 Probanden untersucht. Das mittlere Alter lag bei 47,6 Jahren, der männliche Anteil überwog deutlich mit 81 Probanden. Im Akten-Kollektiv ($n_{\text{Akte}} = 76$) lag das mittlere Alter zum Zeitpunkt des oralen Glukosetoleranztestes (OGTT) bei 48,1 Jahren (± 10). Im selbst untersuchten Kollektiv ($n_{\text{FFA}} = 25$) lag das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 46,2 Jahren (± 11), der männliche Anteil überwog mit 17 Probanden. Beim Vergleich der vor allem als Einschlusskriterien wichtigen Parameter traten zwischen FFA- und Akten-Kollektiv keine statistisch signifikanten Unterschiede auf (statistische Methode: t-Test). Die wichtigsten anthropometrischen, anamnestischen und laborchemischen Parameter sind in Tab. 8 aufgeführt, die Altersverteilung ist Abb. 6 zu entnehmen.

Abb. 6:



Die Alters- und Geschlechtsverteilung des Gesamtkollektivs (n = 101).

1.2.

Tab. 8: Vergleich zwischen Akten- und FFA-Kollektiv

		Akten-Kollektiv	FFA-Kollektiv
Alter	(Jahre)	48,1 ± 10,4 (n = 76)	46,2 ± 10,5 (n = 25)
Minimum	(Jahre)	27	28
Maximum	(Jahre)	69	68
weiblich	(n)	12	8
männlich	(n)	64	17
BMI	(kg/m ²)	27,6 ± 3,6 (n = 76)	28,6 ± 3,7 (n = 25)
Ausländer	(n)	2	1
deutsch	(n)	74	24
Nichtraucher	(n)	44	19
Raucher	(n)	32	6
Triglyceride	(mg/dl)	465,4 ± 378,7 (n = 76)	394,3 ± 253,3 (n = 25)
Cholesterin ges.	(mg/dl)	267,7 ± 64,1	260,1 ± 70,5
HDL	(mg/dl)	35,1 ± 11,1	38,1 ± 10,1
P(ApoE2)		9,9 %	24 %
P(ApoE3)		72,4 %	54 %
P(ApoE4)		17,8 %	22 %
NGT	(n)	51	16
IGT	(n)	20	9
DM	(n)	5	0

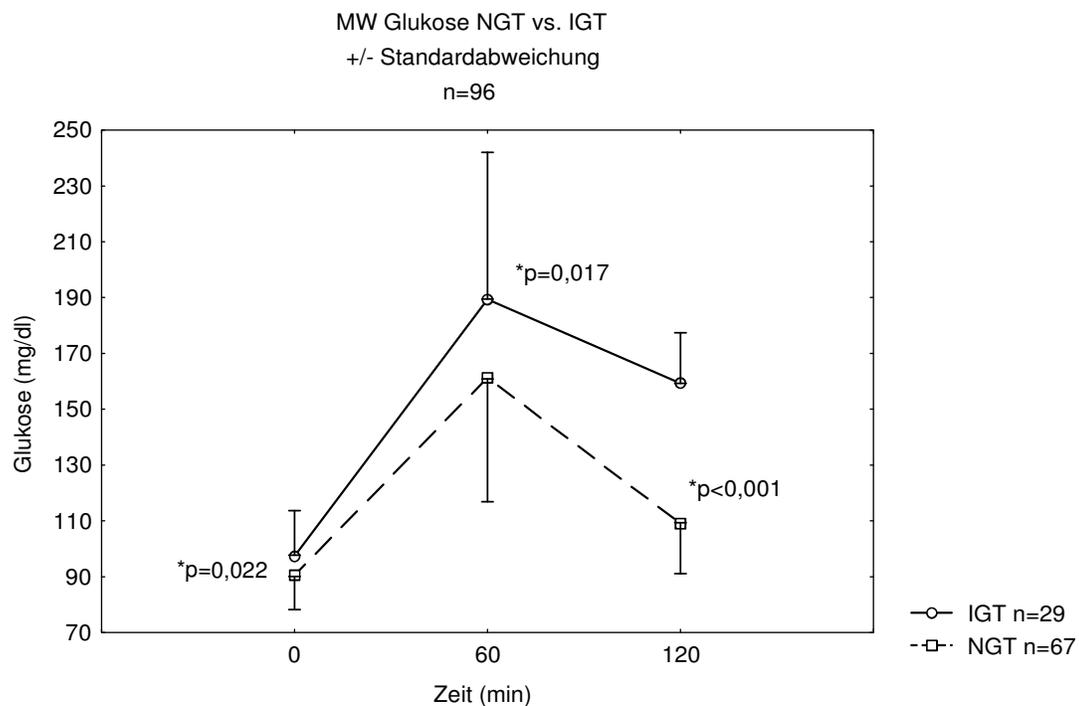
Beim statistischen Vergleich (t-Test) der wichtigsten anthropometrischen, anamnestischen und laborchemischen Parameter traten keine statistisch signifikanten Unterschiede auf (BMI = body mass index, Cholesterin ges. = Cholesterin gesamt im Plasma, ApoE = Apolipoprotein E, P = Allelfrequenz, NGT = normale Glukosetoleranz, IGT = impaired glucose tolerance, DM = Diabetes mellitus).

2. Vergleich NGT vs. IGT

2.1. BZ während des OGTT im Gesamtkollektiv

Da im Rahmen des klinischen Routine-OGTT bei den retrospektiv ermittelten Probanden nur der Blutzucker bestimmt wurde (drei Werte aus Kapillarblut, vom Zentrallaboratorium für klin. Chemie des UKE bestimmt), nicht aber Insulin, C-Peptid, Triglyceride, FFA, erfolgte der Vergleich aller Probanden mit normaler Glukosetoleranz (NGT) gegenüber denen mit einer erniedrigten Glukosetoleranz (IGT) nur über insgesamt drei Glukose-Werte zu den Zeiten 0, 60 und 120 Minuten. Hierbei wurden auch für die prospektiven Probanden die vom Zentrallaboratorium gemessenen Glukose-Werte (kapillär) verwendet, um eine bessere Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Die Gruppen wurden durch den 120'-Wert (kapillär, Zentrallabor) definiert. Fünf retrospektive Probanden wurden aufgrund ihres Diabetes mellitus nicht in die IGT-Gruppe genommen, weshalb hier die Fallzahl statt $n = 101$, $n = 96$ war. Wie Abb. 7 zeigt, waren die Glukose-Werte zu allen drei Zeiten in der IGT-Gruppe signifikant erhöht.

Abb.7:



Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt (MW = Mittelwert, NGT = normale Glukosetoleranz).

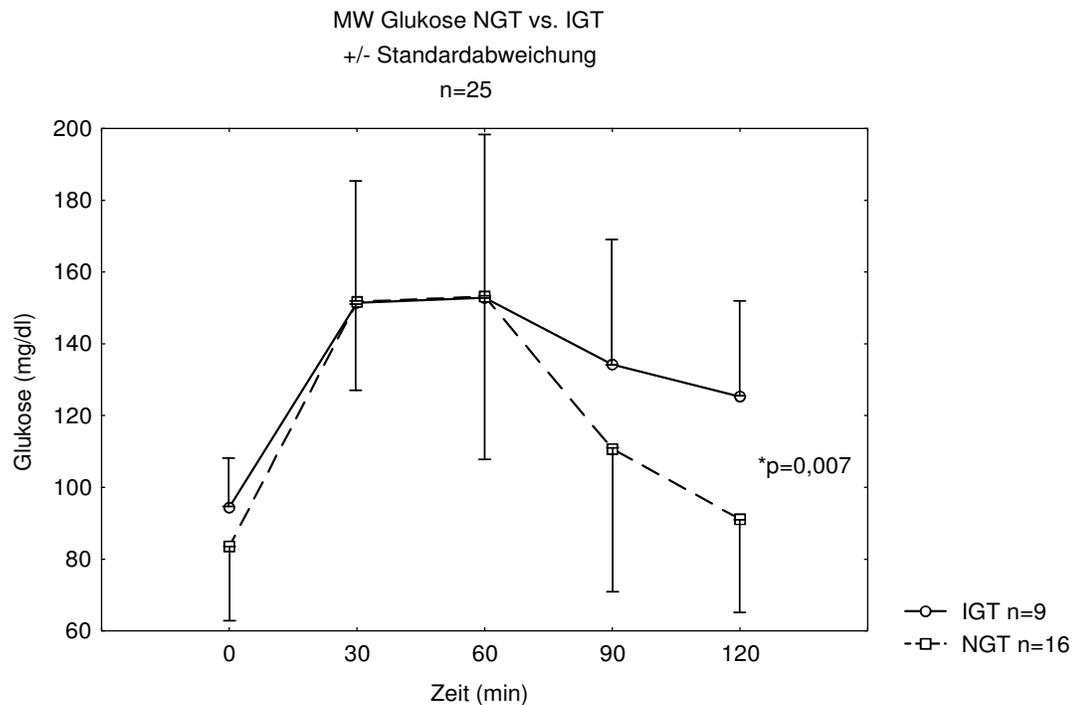
2.2. NGT vs. IGT im FFA-Kollektiv (n = 25)

2.2.1. Glukose

Bei den FFA-Probanden wurde die Glukose zu fünf Zeitpunkten aus venösem Serum bestimmt (jeweils nach 0, 30, 60, 90 und 120 Minuten). In diese Gruppe wurden keine Diabetiker eingeschlossen. Patienten mit IGT zeigen bei 120' einen höheren Wert als die NGT-Gruppe.

Die IGT-Gruppe wurde nicht durch den im venösen Serum selbst, sondern durch den vom Zentrallabor (in Kapillarblut) gemessenen 120'-Glukose-Wert definiert. Deswegen kann der (selbstgemessene) Zwei-Stunden-Blutglukose-Mittelwert der IGT-Gruppe unter 140 mg/dl liegen.

Abb. 8:

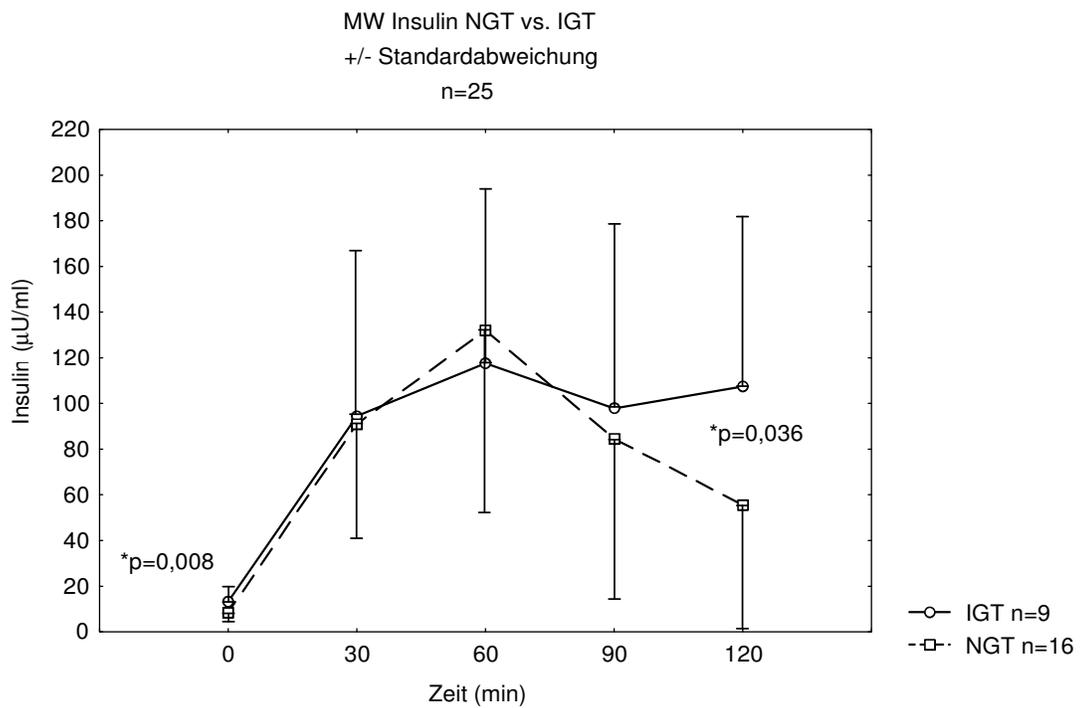


Patienten mit IGT zeigen bei 120' einen höheren Wert als die NGT-Gruppe. Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt (MW = Mittelwert). Die Werte wurden selbst, aus venösem Serum spektrophotometrisch bestimmt.

2.2.2. Insulin

Insulin wurde aus venösem Plasma bestimmt. In der Gruppe mit IGT waren der erste und der letzte Wert signifikant erhöht.

Abb. 9:

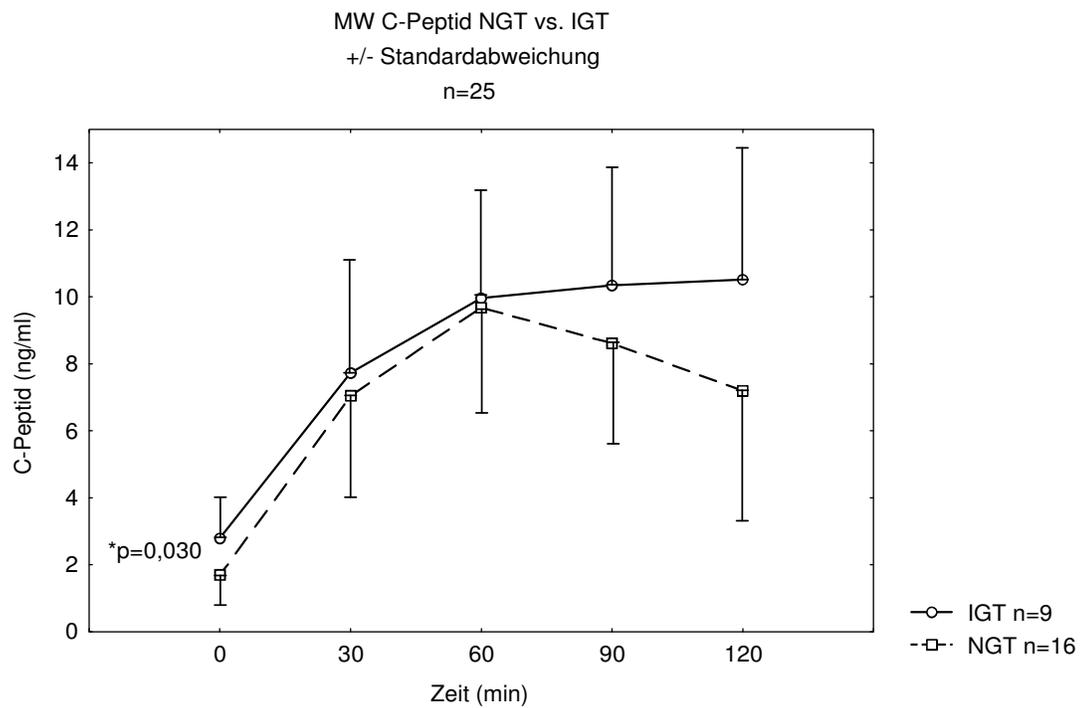


Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt (MW = Mittelwert).

2.2.3. C-Peptid

In der IGT-Gruppe war der C-Peptid-Spiegel zu allen fünf Zeitpunkten höher als in der NGT-Gruppe, jedoch war nur der erste Wert signifikant erhöht.

Abb. 10:



Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt (MW = Mittelwert).

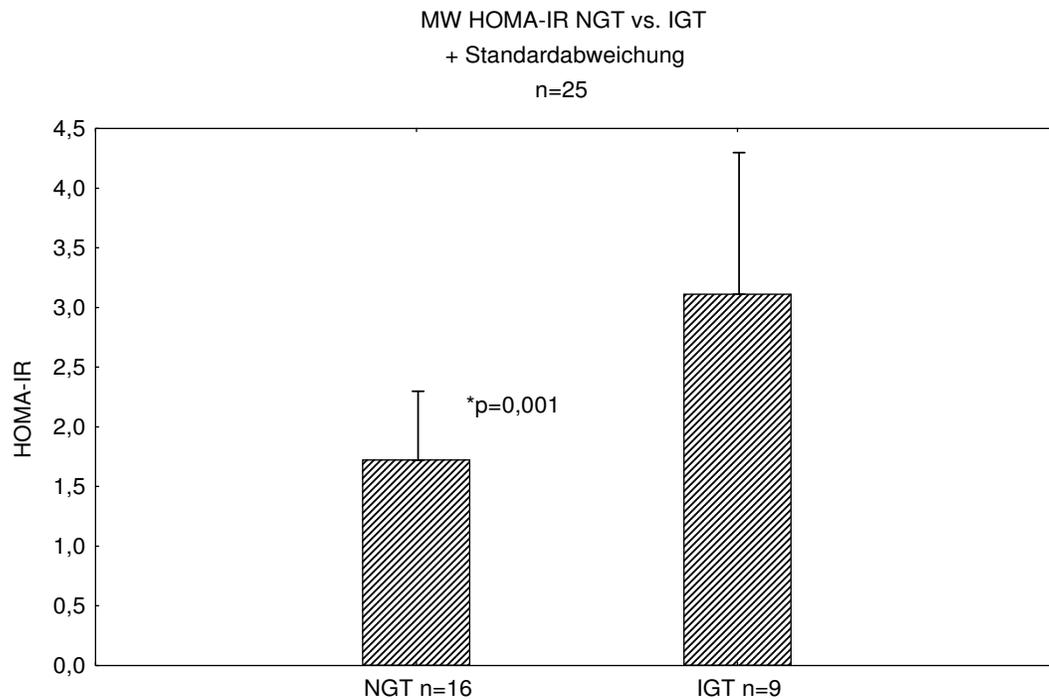
2.2.4. HOMA-IR

HOMA-IR ist ein Ersatzverfahren zur Bestimmung der in vivo-Insulinresistenz. In die Formel zur Berechnung gehen die Nüchtern-Plasmaglukose und Nüchterninsulin ein (siehe I.4.1.). In die Berechnung ging die vom Zentrallabor gemessene Nüchtern-Glukose ein.

Da die Stichproben normalverteilt vorlagen, wurde die Signifikanz hier mit dem t-Test nach log-Transformierung ermittelt.

Im Gesamtkollektiv (siehe Tab. 9) ist der Mittelwert der IGT-Gruppe nicht signifikant erhöht. Die Fallzahl $n = 39$ ergibt sich aus den 25 FFA-Probanden plus 14 Akten-Probanden, bei denen der Nüchterninsulin-Spiegel bestimmt worden ist. Der HOMA-IR-Mittelwert der IGT-Gruppe ist signifikant erhöht.

Abb. 11:



MW = Mittelwert, HOMA-IR = homeostasis model assessment for insulin resistance

Tab. 9: HOMA-IR-Mittelwerte der NGT- und IGT-Gruppe

	NGT	IGT	Signifikanz
Ges.-Kollektiv n = 39	2,2 ± 1,5	2,9 ± 1,2	n.s.
FFA-Kollektiv n = 25	1,7 ± 0,6	3,1 ± 1,2	p=0,001

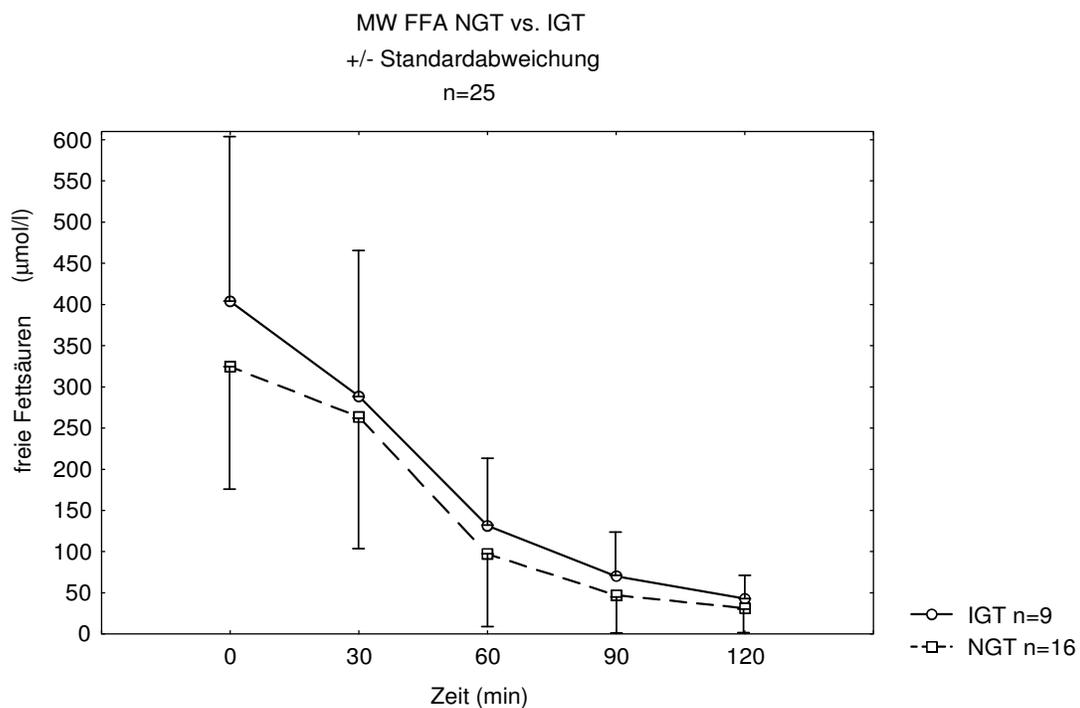
Die Signifikanzen wurden mit dem t-Test nach log-Transformierung berechnet. Gesamtkollektiv (n = 39) = FFA-Kollektiv + 14 Akten-Probanden mit dokumentiertem Nüchterninsulin-Spiegel. NGT = normale Glukosetoleranz, n.s. = nicht signifikant, Ges.-Kollektiv = Gesamtkollektiv.

2.2.5. Triglyceride und freie Fettsäuren

Bei den Triglyceriden fanden sich keine signifikanten Unterschiede bei allen fünf Werten. Der Verlauf war zu allen Zeitpunkten weitgehend stabil (siehe Tab. 16).

Die freien Fettsäuren wurden bei beiden Gruppen effektiv supprimiert, wobei die Werte der IGT-Gruppe durchgehend höher waren, als die der Gruppe mit normaler Glukosetoleranz, jedoch nicht statistisch signifikant. Die Signifikanzen wurden mit dem t-Test ermittelt.

Abb. 12:



MW = Mittelwert, FFA = freie Fettsäuren, IGT = impaired glucose tolerance, NGT = normale Glukosetoleranz

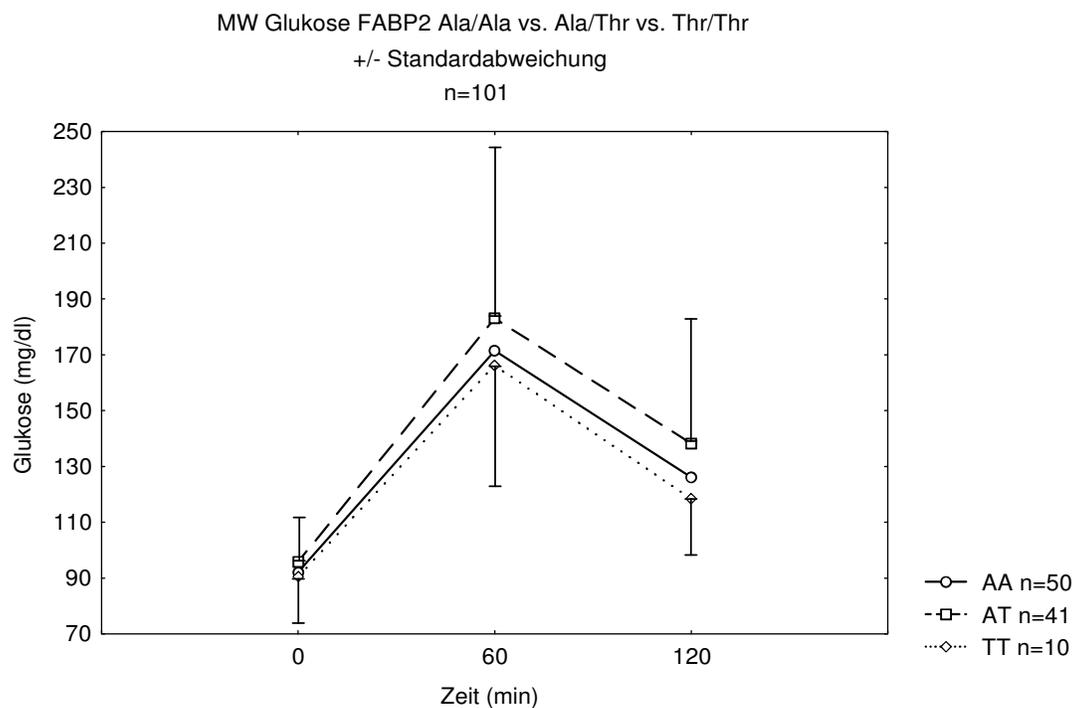
3. Einfluss des FABP2-Genotyps im Gesamtkollektiv (n = 101) auf

- Glukose

Wie oben erwähnt, konnte auch hier (n = 101) der Vergleich zwischen den drei Fatty Acid-Binding Protein 2 (FABP2) - Genotypen nur anhand von drei Glukosewerten geführt werden. Zugrunde gelegt wurden wieder die aus Kapillarblut im Zentrallaboratorium des UKE bestimmten Glukose-Werte.

Zwischen den drei Gruppen traten keine statistisch signifikanten Unterschiede auf. Geprüft wurde mit dem t-Test. Die Glukose-Mittelwerte der für das Thr54-Allel Homozygoten lagen am niedrigsten. Weitere Parameter können der Tab. 17 entnommen werden.

Abb. 13:



Es wurden keine statistischen Signifikanzen gefunden. Die Glukose-Werte wurden vom UKE-Zentrallabor bestimmt.

- Triglyceride

Beim Vergleich der Triglycerid-Mittelwerte (Bestimmung vor dem OGTT durch das Zentrallabor des UKE) lagen die für das Ala54-Allel homozygoten Probanden am niedrigsten und die für das Thr54-Allel homozygoten Probanden am höchsten, jedoch ohne statistische Signifikanz (keine Grafik, Werte siehe Tab. 17).

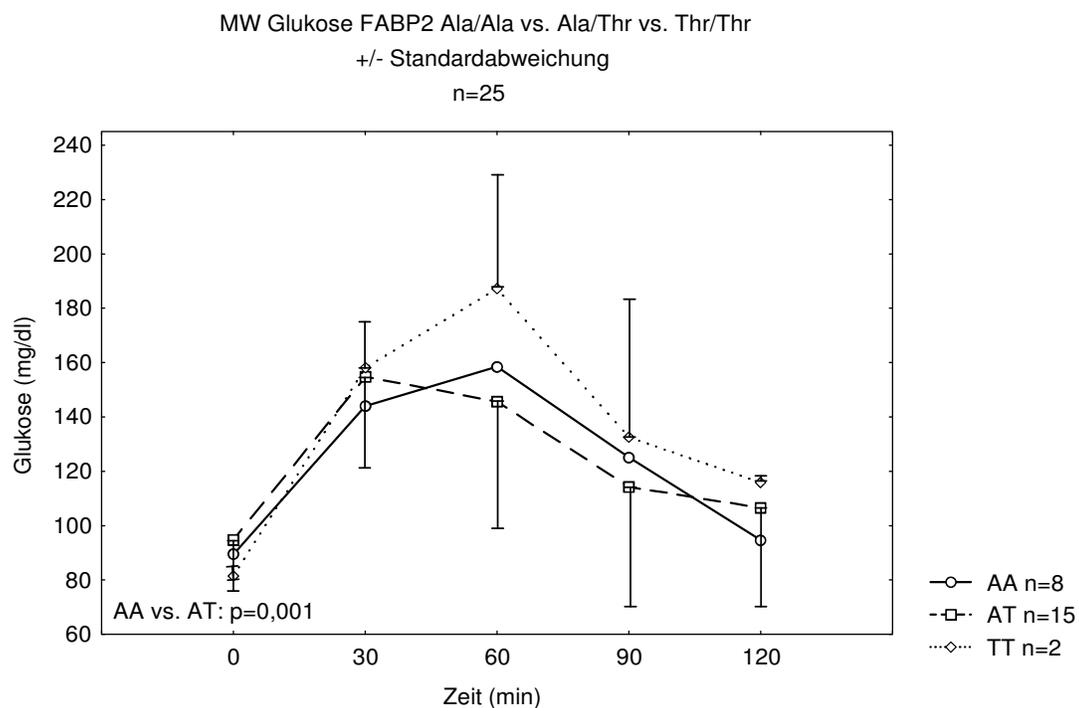
3.1. Einfluss des FABP2-Genotyps im FFA-Kollektiv (n = 25)

3.1.1. Glukose

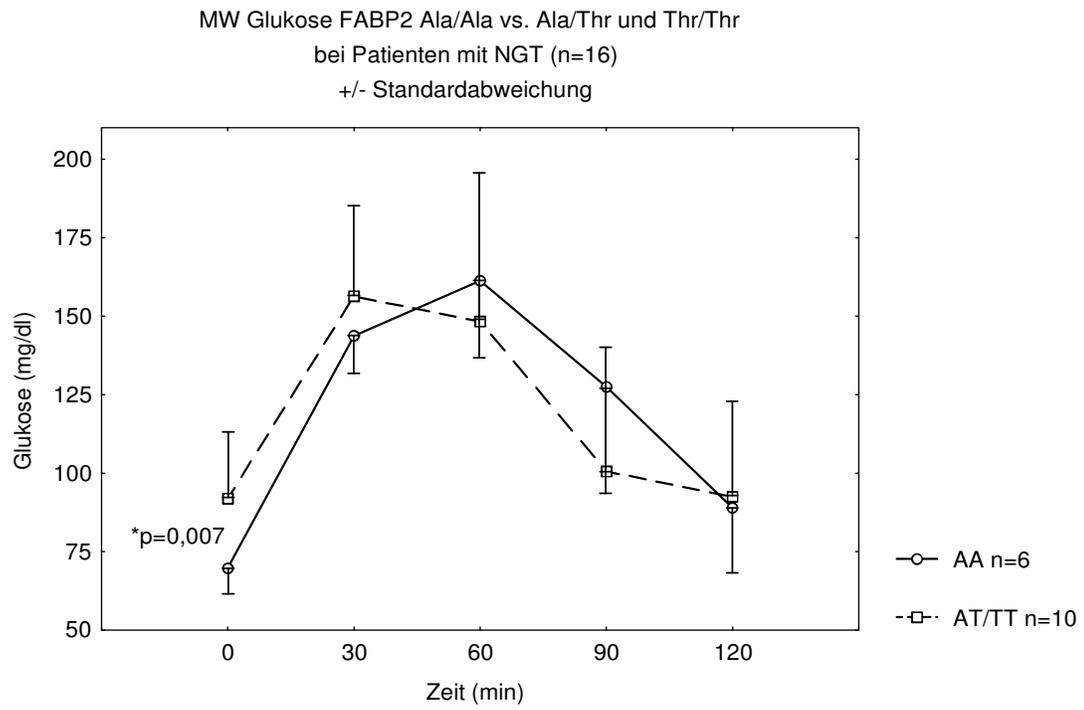
Im FFA-Kollektiv wurden die Glukose-Werte wieder zu fünf Zeiten aus venösem Serum bestimmt. Es fand sich folgende Verteilung der Genotypen: homozygote für Ala = 8, homozygote für Thr = 2, heterozygote = 15.

In diesem Kollektiv (n = 25) lagen die Glukose-Werte der für Ala homozygoten zwischen denen der heterozygoten und denen der für Thr homozygoten. Der erste Wert war in der heterozygoten Gruppe signifikant höher (vs. Ala/Ala). Dies behielt sich bei Verkleinerung des Kollektivs auf Probanden mit normaler Glukosetoleranz (n = 16) bei. Im Kollektiv mit pathologischer Glukosetoleranz (n = 9) traten keine signifikanten Unterschiede mehr auf. Wegen der niedrigen Fallzahlen der beiden letztgenannten Kollektive, wurden die hetero- und homozygoten FABP2-Gen-Polymorphismusträger (Ala/Thr + Thr/Thr, n = 17) unter der Annahme eines dominanten Rollenmodells jeweils zusammengefasst. Dies gilt auch für die nachfolgenden Parameter.

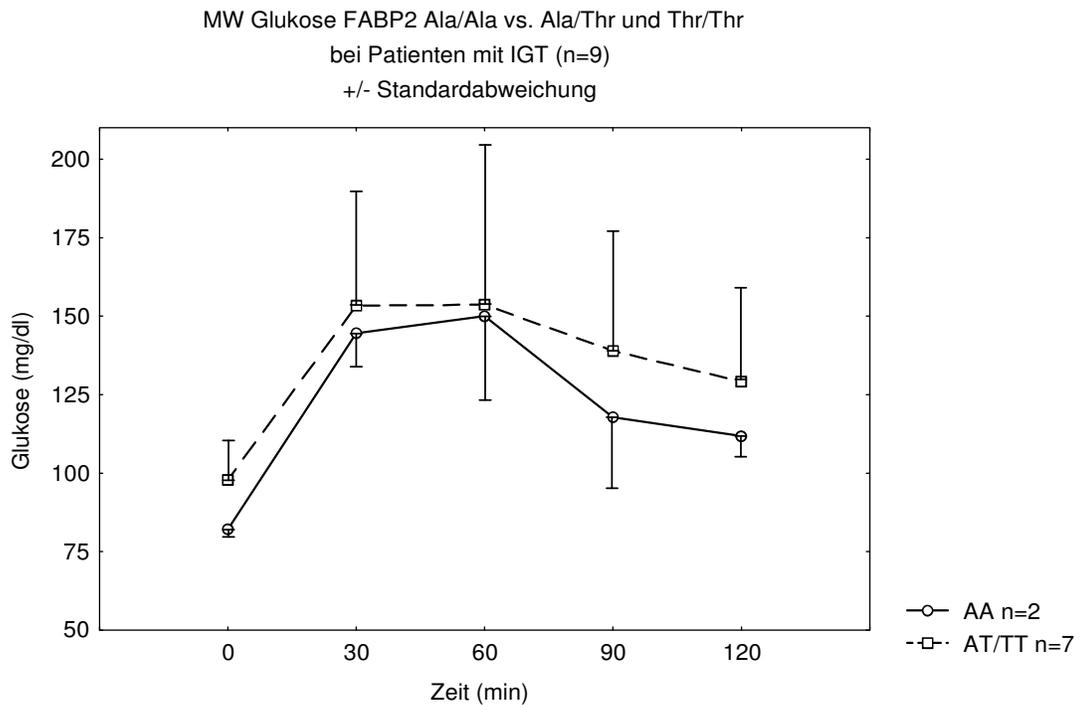
Abb. 14:



Glukose-Mittelwerte im FFA-Kollektiv. Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt. Die Standardabweichungen für die Ala/Ala-Gruppe betragen 14 (0 min), 11, 39, 30 und 21 mg/dl (120 min). MW = Mittelwert.

Abb. 15:

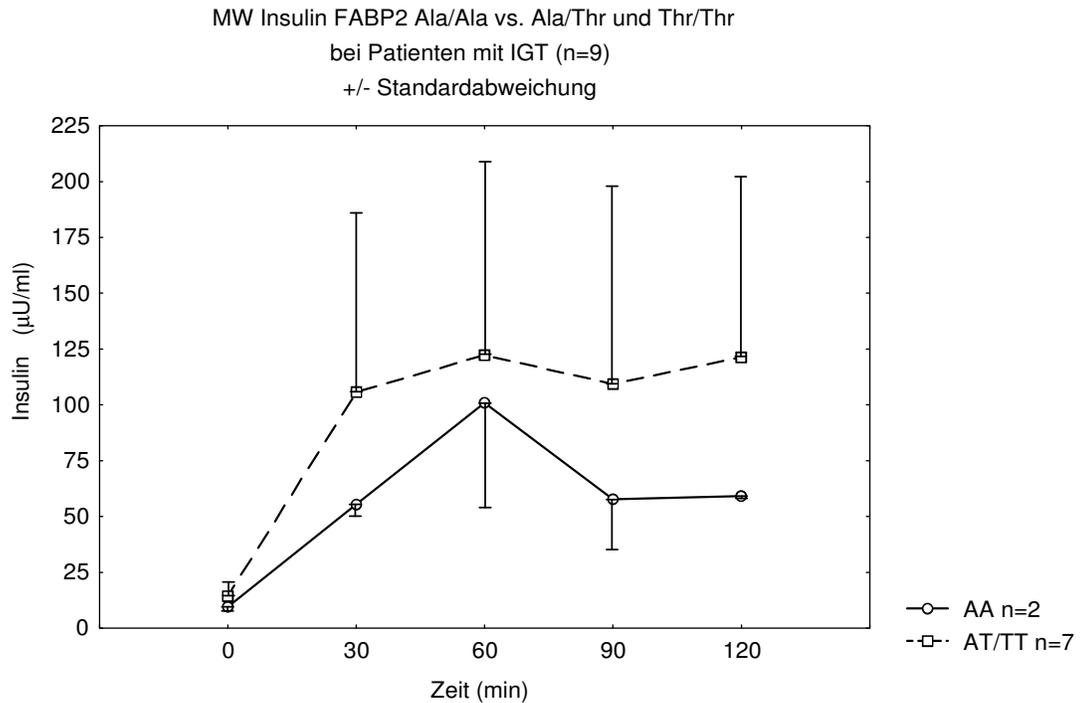
Glukose-Mittelwerte im FFA-Kollektiv mit NGT. Die Signifikanz wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test ermittelt (NGT = normale Glukosetoleranz).

Abb. 16:

Glukose-Mittelwerte im FFA-Kollektiv mit IGT. Es fanden sich keine statistischen Signifikanzen (statistisches Verfahren: Mann-Whitney-U-Test).

3.1.2. Insulin

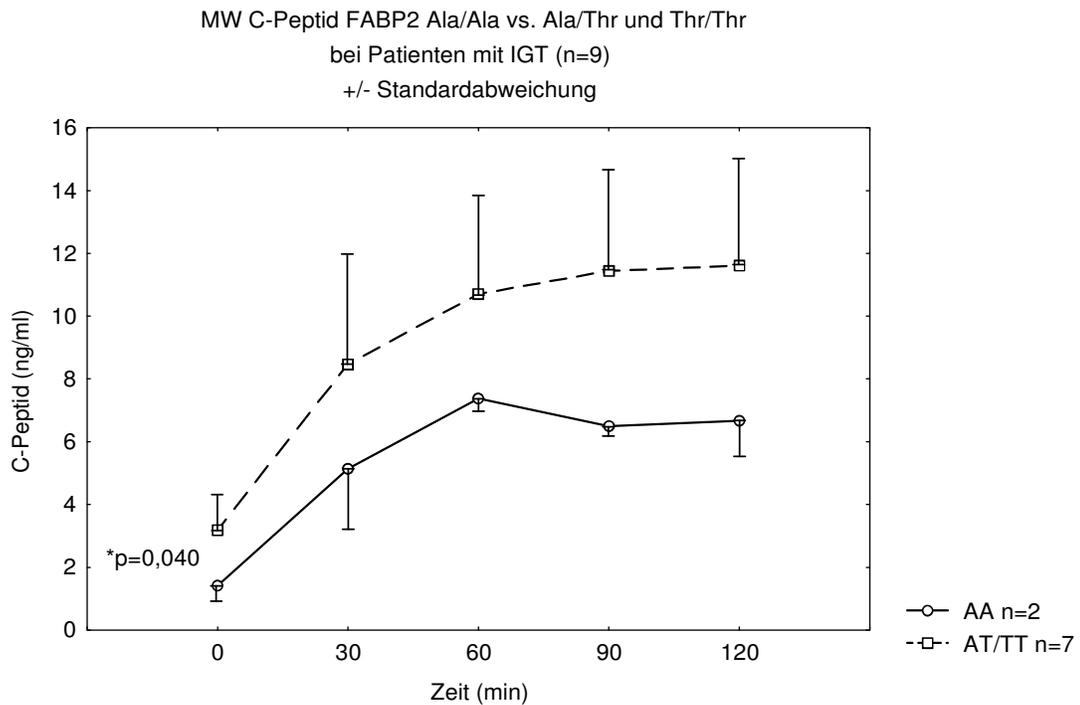
Die Werte sowohl innerhalb der gesamten FFA-Gruppe (n = 25), als auch der FFA-Gruppe mit normaler Glukosetoleranz (n = 16) unterschieden sich so gering, dass hier auf eine detaillierte grafische Darstellung verzichtet wird. Die Werte sind den Tabellen 18 - 20 zu entnehmen. Auch in der FFA-Gruppe mit IGT (n = 9) traten keine statistischen Signifikanzen auf (siehe Abb. 17).

Abb. 17:

Insulin-Mittelwerte im FFA-Kollektiv mit IGT. Verwendet wurde der Mann-Whitney-U-Test.

3.1.3. C-Peptid

Die Werte sowohl innerhalb der gesamten FFA-Gruppe (n = 25), als auch der FFA-Gruppe mit normaler Glukosetoleranz (n = 16) unterschieden sich (ähnlich wie die Insulin-Werte) so gering, dass auch hier auf eine detaillierte grafische Darstellung verzichtet wird. Die Werte sind den Tabellen 18 - 20 zu entnehmen. Jedoch war in der Auswahl mit normaler Glukosetoleranz (n = 16) der 90 Minuten-Wert der Gruppe mit der Mutation im Codon 54 (Ala/Thr und Thr/Thr) gegenüber der Gruppe ohne Mutation (Ala/Ala) schwach signifikant niedriger, sowie in der IGT-Auswahl (n = 9) der 0 Minuten-Wert schwach signifikant höher (siehe Tab. 18 - 20, Abb. 18).

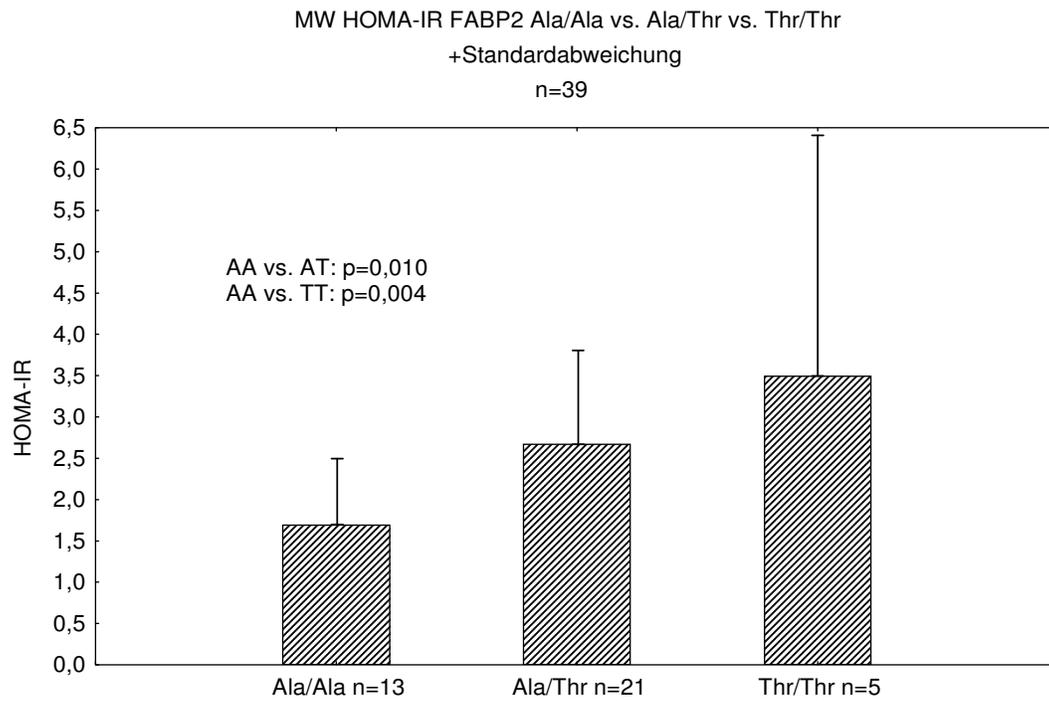
Abb. 18:

C-Peptid-Mittelwerte im FFA-Kollektiv mit IGT. Unter Anwendung des Mann-Whitney-U-Tests war der erste Wert bei den Probanden mit dem Thr54-Allel (AT/TT) signifikant höher.

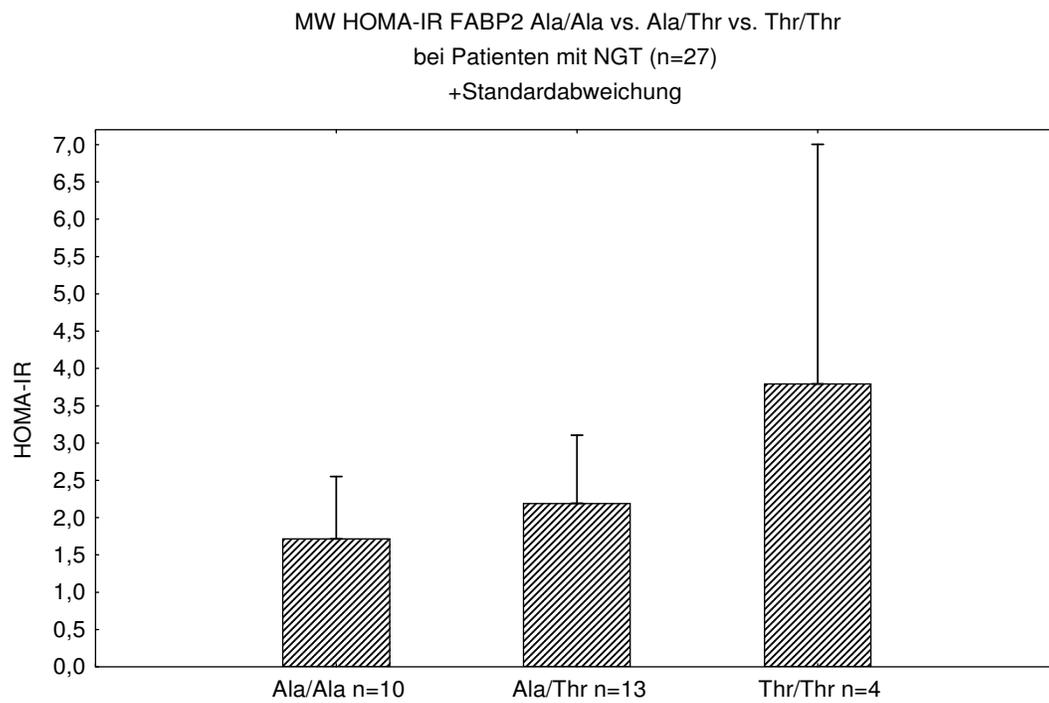
3.1.4. HOMA-IR

Hier weichen die Fallzahlen im Vergleich zu den anderen Parametern ab, eine HOMA-IR konnte bei 39 Patienten berechnet werden. Diese setzen sich zusammen aus den 25 FFA-Patienten und 14 Akten-Patienten, denen ein Nüchterninsulin-Wert zugeordnet werden konnte. Die Fallzahlen sind hier also 39 (gesamt), 27 (NGT) und 12 (IGT). Bei $n = 39$ lag der HOMA-IR-Mittelwert der FAPB2-Gen Ala/Thr-Gruppe zwischen dem der Ala/Ala- (signifikant niedriger) und dem der Thr/Thr-Gruppe (höher). Genauso verhält es sich bei der Untergruppe mit normaler Glukosetoleranz (NGT), jedoch ohne statistische Signifikanzen.

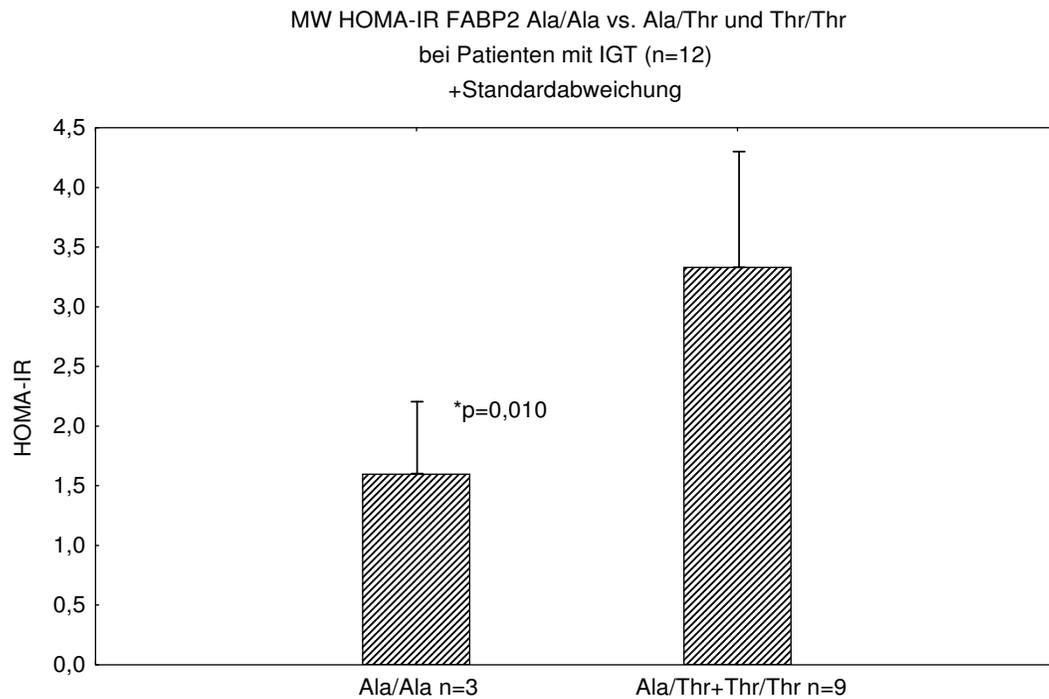
Bei $n = 12$ (IGT) wurden die Probanden mit dem Ala54Thr-Polymorphismus wieder zusammengefasst (Thr/Thr: $n = 1$). Der HOMA-IR-Mittelwert der Ala54-Gruppe war hier signifikant niedriger als der der Thr54-Gruppe.

Abb. 19:

HOMA-IR und FABP2-Genotyp im HOMA-Gesamtkollektiv. Die Signifikanzen wurden mit dem t-Test nach log-Transformierung berechnet (HOMA-IR=homeostasis model assessment for insulin resistance).

Abb. 20:

HOMA-IR und FABP2-Genotyp im HOMA-Kollektiv mit NGT. Es finden sich keine statistischen Signifikanzen (Verfahren: t-Test nach log-Transformierung).

Abb. 21:

HOMA-IR und FABP2-Genotyp im HOMA-Kollektiv mit IGT (statistisches Verfahren: t-Test nach log-Transformierung).

Tab 10: HOMA-IR und FABP2-Genotyp im HOMA-Kollektiv

	Ala/Ala	Ala/Thr	Thr/Thr	Signifikanz
gesamt n=39	1,7 ± 0,8 ^o	2,7 ± 1,1*	3,5 ± 2,9 ^o	*p=0,01 ^o p=0,004
NGT n=27	1,7 ± 0,8	2,2 ± 0,9	3,8 ± 3,2	n.s.
IGT n=12	1,6 ± 0,6*	3,5 ± 1,0*	2,3 ± 0	*p=0,01
	Ala/Ala	Ala/Thr und Thr/Thr		
gesamt n=39	1,7 ± 0,8	2,8 ± 1,6		p=0,006
NGT n=27	1,7 ± 0,8	2,6 ± 1,7		n.s.
IGT n=12	1,6 ± 0,6	3,3 ± 1,0		p=0,01

Zusammenfassung der HOMA-IR-Mittelwerte: Abhängigkeit vom FABP2-Genotyp innerhalb der drei Gruppen (gesamt, normale Glukosetoleranz (NGT) und IGT).

3.1.5. Triglyceride

Es gab für die Triglycerid-Mittelwerte in allen drei Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen der Auswahl ohne (Ala/Ala) und mit (Ala/Thr und Thr/Thr) Codon 54-Polymorphismus des FABP2-Gens. Ala/Thr und Thr/Thr wurden wegen der geringen Fallzahlen wieder zusammengefasst. Durchgehend war auch zu beobachten, dass die Werte mit zunehmender Zeit (während des OGTT) leicht abfielen. So zum Beispiel in der Gesamtgruppe (n = 25) von 379 mg/dl (0 Minuten) auf 360 mg/dl (120 Minuten, beide Ala/Ala) und von 389 mg/dl (0 Minuten) auf 360 mg/dl (120 Minuten, beide Ala/Thr und Thr/Thr). Die gesamten Werte sind den Tabellen 18 - 20 zu entnehmen.

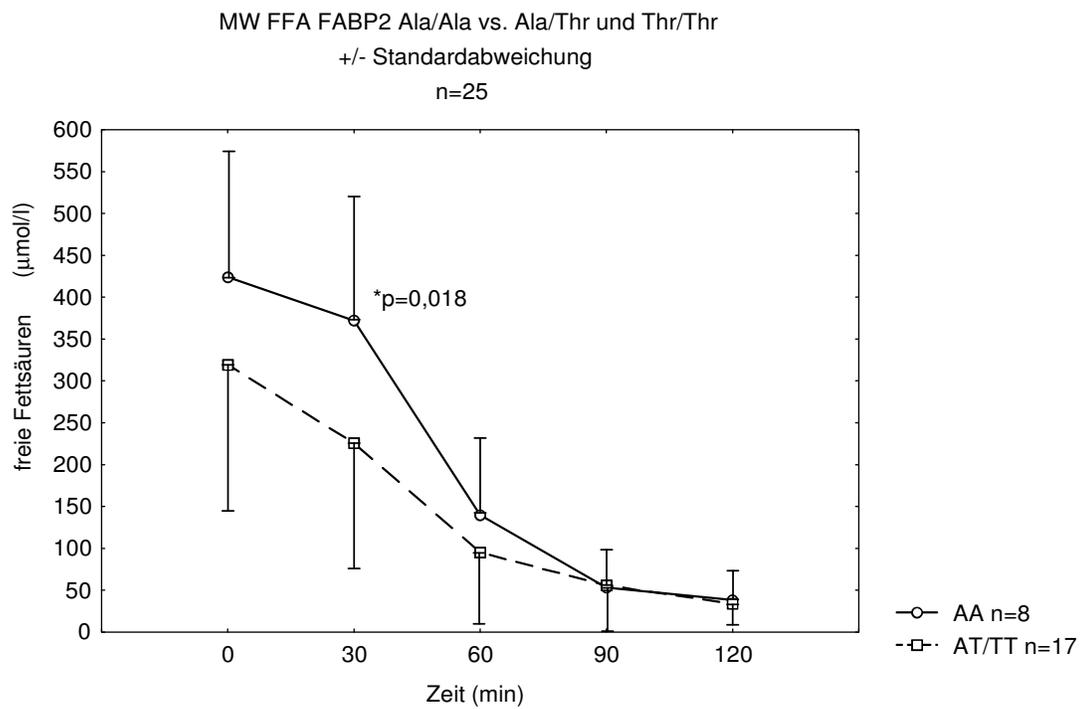
3.1.6. Cholesterin

wurde ebenfalls zu allen fünf Zeiten während des OGTT bestimmt, aber vor allem, um Verfahrensfehler zu erkennen. Erwartungsgemäß waren die Werte in Abhängigkeit von der Zeit stabil, als auch im Vergleich zwischen den FABP2-Genotypen (Ala/Ala vs. Ala/Thr und Thr/Thr) ohne statistisch signifikante Unterschiede (siehe Tabellen 18 - 20).

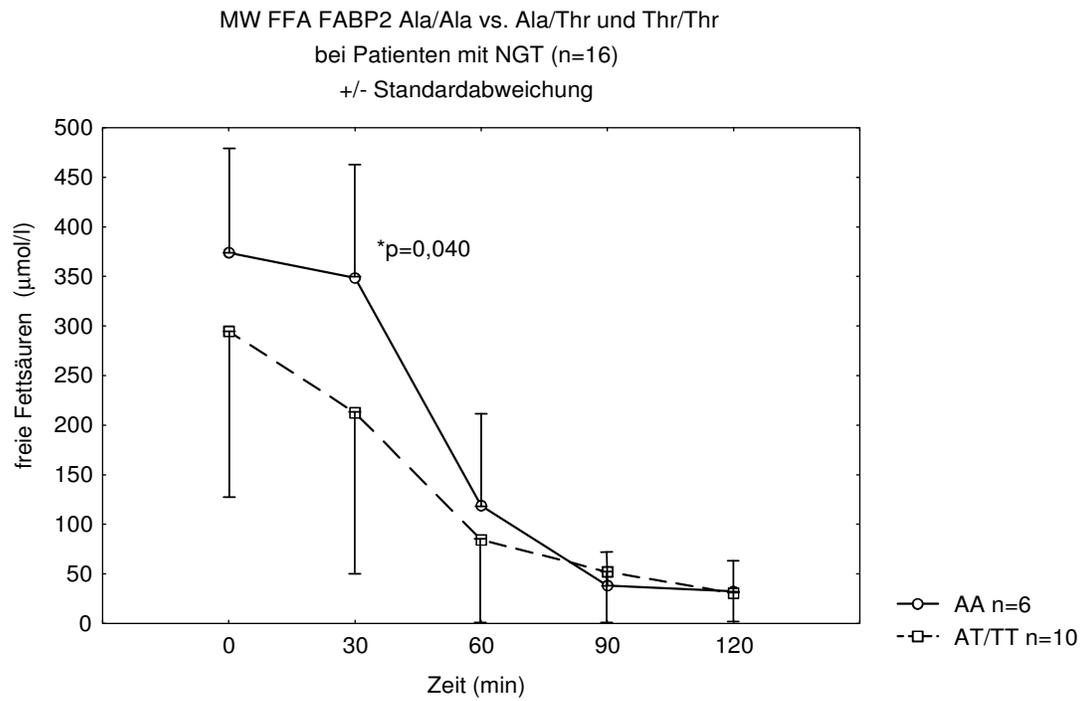
3.1.7. Freie Fettsäuren

Fasste man auch hier die FABP2-Genotypen Ala/Thr und Thr/Thr zusammen und verglich die Mittelwerte mit Ala/Ala, ergab sich folgendes Bild: In allen drei Gruppen wurden die freien Fettsäuren eindrucksvoll supprimiert und überall lagen die Werte für die Ala/Ala-Gruppe zu allen Zeiten über denen der Ala/Thr und Thr/Thr-Gruppe, d. h. erstere hatte höhere Ausgangswerte und die freien Fettsäuren wurden in der ersten halben Stunde des OGTT schlechter supprimiert. Statistisch signifikant erwiesen sich hier der 30 Minuten-Wert bei n = 25 (prospektiv gesamt) und n = 16 (NGT), nicht mehr jedoch bei n = 9 (IGT).

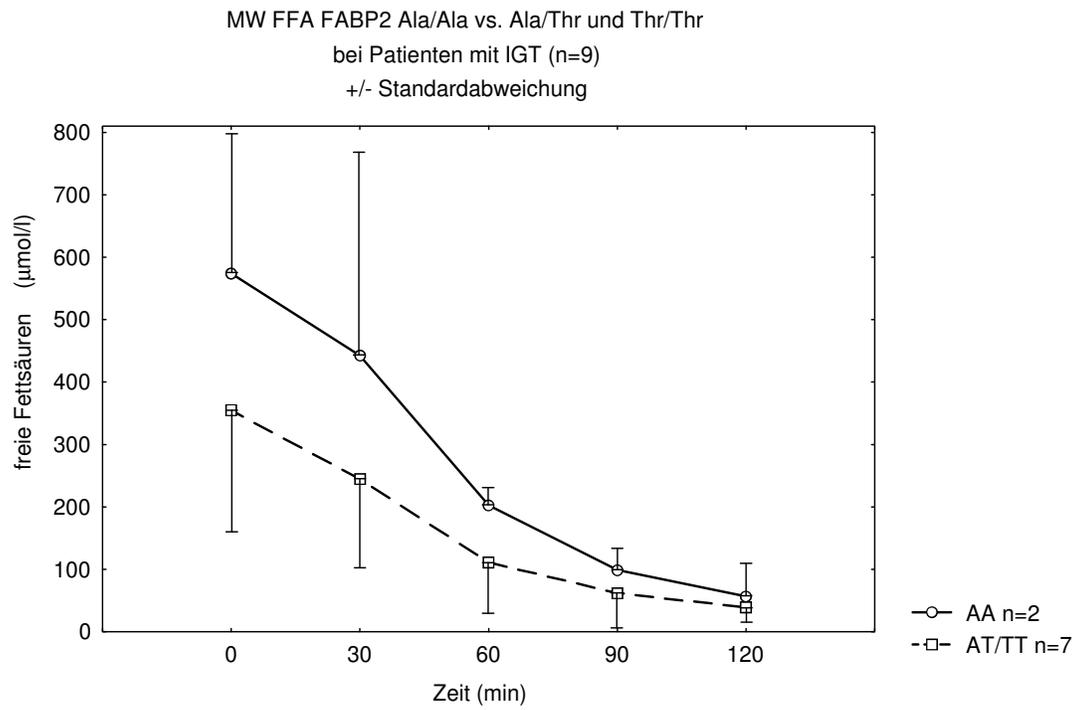
Wenn, trotz geringer Fallzahlen die drei FABP2-Genotypen bei n = 25 getrennt betrachtet wurden, lagen die ersten beiden Thr/Thr-Werte zwischen Ala/Ala und Ala/Thr, und die restlichen am höchsten. Signifikant höher war auch hier wieder der 30 Minuten-Wert Ala/Ala vs. Ala/Thr.

Abb. 22:

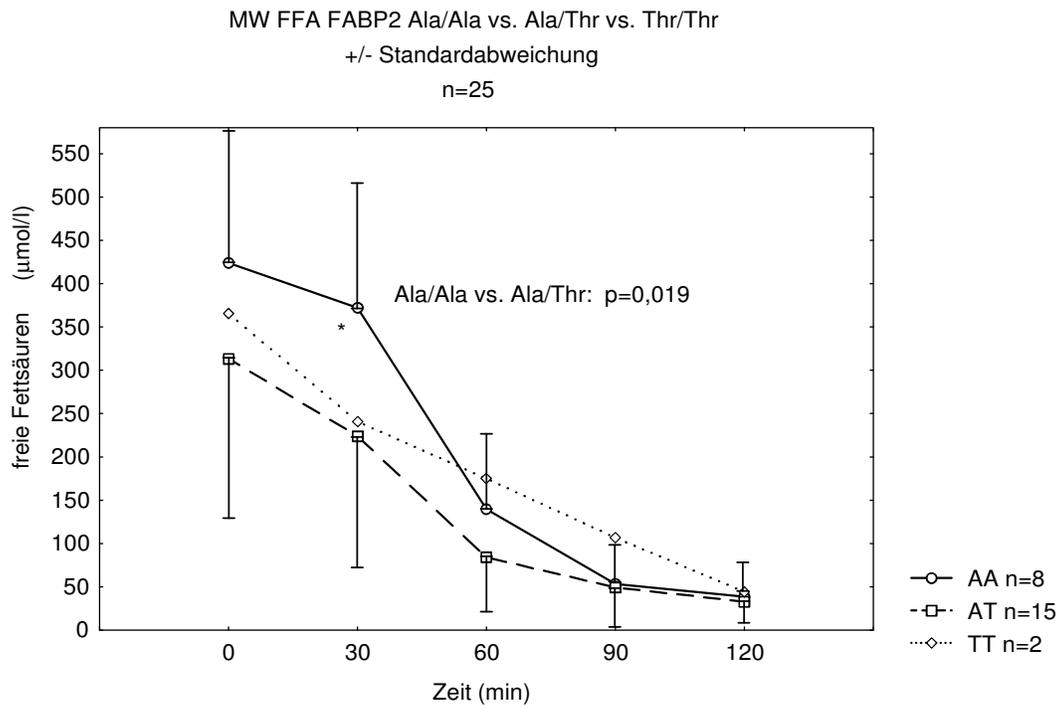
Statistisches Verfahren: t-Test nach log-Transformierung.

Abb. 23:

Statistisches Verfahren: t-Test nach log-Transformierung.

Abb. 24:

Hier fanden sich keine statistischen Signifikanzen.

Abb. 25:

Hier wurden die drei Genotypen getrennt betrachtet (statistisches Verfahren: t-Test nach log-Transformierung). Die fehlenden Standardabweichungen sind in Tabelle 18 aufgeführt.

Tab. 11: FFA und FABP2-Genotyp (n = 25)

	AA	AT	TT	Signifikanz
FFA 0 Min.	423,9	313,3	365,4	n.s.
30 Min.	372,1*	223,7*	240,8	*p=0,019
60 Min.	139,8	84,5	175,2	n.s.
90 Min.	53,3	49,3	106,7	n.s.
120 Min.	38,5	32,7	44,1	n.s.

FFA- (free fatty acids-) Mittelwerte. Die Signifikanzen wurden mit dem t-Test nach log-Transformierung berechnet. Die Standardabweichungen für die Mittelwerte sind in Tabelle 18 aufgeführt (AA = Ala/Ala, AT = Ala/Thr, TT = Thr/Thr).

4. Thr54-Allelfrequenzen im Gesamt-Kollektiv

Hier wurden drei Gruppen gebildet: Probanden gesamt (n = 101), Männer (n = 77) und Frauen (n = 19). Diese wurden jeweils in zwei Untergruppen mit normaler und mit herabgesetzter Glukosetoleranz unterteilt.

In allen drei Gruppen ist die Frequenz des Thr54-Allels des Fatty Acid-Binding Protein 2-Gens bei den Probanden mit IGT höher, als bei denen mit normaler Glukosetoleranz (siehe Tabelle 12), jedoch ohne statistische Signifikanz (siehe Tabelle 13). Im Vergleich zu den Männern war bei den Frauen die Thr54-Allelfrequenz nicht signifikant höher.

Schließlich wurde die Häufigkeit der ApoE- und FABP2-Genotypen im FFA-Kollektiv untersucht. Es fanden sich nur 3 Probanden mit ApoE 3/3 ohne Ala54Thr. Es fanden sich 5 Probanden mit ApoE-Defekt und Ala54Thr (siehe Tab. 14).

Abb. 26: RFLP-Muster des FABP2-Gens nach Hha I-Verdau

A A T A T A A A A A T L



Restriktionsfragment-Muster im UV-Licht von Exon 2 des FABP2-Gens, verdaut mit Hha I. In Position 1 (von rechts) befindet sich ladder-DNA (L), Position 2 ist leer. Unter T sind die Banden (180 bp) der verdauten PCR-Produkte der für Thr54 homozygoten Allele, unter A die Banden (81 bp, 99 bp) der verdauten PCR-Produkte der für Ala54 homozygoten Allele. Die restlichen Positionen (3, 8, 17) mit drei Banden (teilweise leider nur sehr schwach) entsprechen den verdauten PCR-Produkten der heterozygoten Allele.

Tab. 12: FABP2-Allelfrequenzen

	Gruppe	n	AA	AT	TT	Frequenz Thr54
Patienten gesamt	Männer	81	41	33	7	0,29
	Frauen	20	9	8	3	0,35
	NGT	67	37	22	8	0,29
	IGT	29	11	16	2	0,35
	IGT + DM	34	13	19	2	0,34
Männer	NGT	60	33	21	6	0,28
	IGT	17	7	9	1	0,32
Frauen	NGT	7	4	1	2	0,36
	IGT	12	4	7	1	0,38

Verteilung der FABP2-Genotypen innerhalb der einzelnen Gruppen und die Häufigkeit des Thr54-Allels (NGT = normal glucose tolerance, IGT = impaired glucose tolerance, DM = Diabetes mellitus, n = Häufigkeit, AA = Ala/Ala, AT = Ala/Thr, TT = Thr/Thr).

Tab. 13: Signifikanz der FABP2-Allelfrequenzen

	Gruppe	n	Ala54	Thr54	Chi ²
Patienten gesamt	Männer	81	125	47	p=0,33
	Frauen	20	26	14	
	NGT	67	96	38	p=0,40
	IGT	29	38	20	
	NGT	67	96	38	p=0,42
	IGT + DM	34	45	23	
Männer	NGT	60	87	33	p=0,74
	IGT	17	23	11	
Frauen	NGT	7	9	5	p=0,91
	IGT	12	15	9	

Die Signifikanz der Thr54-Allelverteilung wurde mit dem Chi-Square-Test (Chi²) überprüft. Es traten keine statistischen Signifikanzen auf (Abkürzungen siehe Kommentar zu Tabelle 12).

Tab. 14: Häufigkeit der ApoE-/FABP2-Genotypen

ApoE		2/2	2/3	2/4	3/3	3/4	4/4
FABP	AA	3	1	--	3*	1	--
	AT	1°	2°	--	4	7	--
	TT	--	1°	--	--	1°	--

Häufigkeit der ApoE-/FABP2-Genotypen im FFA-Kollektiv. Es fanden sich nur drei Probanden mit ApoE 3/3 und ohne Thr54 (*). Es fanden sich fünf Probanden mit ApoE-Defekt und Thr54 (°).

5. Wertetabellen

Tab. 15: Gesamtkollektiv

		NGT	IGT	Signifikanz
Patienten	(n)	67	29	--
BMI	(kg/m ²)	27,5 ± 3,3	28,2 ± 4,3	n.s.
Alter	(Jahre)	46,2 ± 10,2	50,2 ± 10,1	n.s.
TG	(mg/dl)	460,5 ± 351,1	412,4 ± 285,8	n.s.
Chol. ges.	(mg/dl)	268,0 ± 63,9	257,0 ± 66,6	n.s.
HDL	(mg/dl)	35,0 ± 10,7	36,7 ± 8,9	n.s.
Glukose 0 Min.	(mg/dl)	90,6 ± 11,9	97,3 ± 16,1	p=0,022
60 Min.	(mg/dl)	161,4 ± 44,1	189,3 ± 52,3	p=0,017
120 Min.	(mg/dl)	109,0 ± 18,3	159,3 ± 16,9	p<0,001
männlich	(n)	60	17	--
weiblich	(n)	7	12	--

Gesamtkollektiv, n = 96 (BMI = body mass index, Chol. ges. = Cholesterin gesamt , n.s. = nicht signifikant, TG = Triglyceride, NGT = normale Glukosetoleranz). Die Glukose-Werte wurden vom UKE-Zentrallabor gemessen.

Tab. 16: FFA-Kollektiv

		NGT	IGT	Signifikanz
Patienten	(n)	16	9	--
BMI	(kg/m ²)	28,2 ± 4,0	29,5 ± 3,1	n.s.
Alter	(Jahre)	44,1 ± 10,6	49,9 ± 9,9	n.s.
Chol.ges.	(mg/dl)	273,8 ± 92,9	222,0 ± 51,9	n.s.
HDL	(mg/dl)	38,6 ± 11,1	37,2 ± 8,6	n.s.
Glukose 0´	(mg/dl)	83,6 ± 20,2	94,4 ± 12,9	n.s.
30´	(mg/dl)	151,7 ± 23,7	151,4 ± 33,5	n.s.
60´	(mg/dl)	153,2 ± 44,6	152,9 ± 45,4	n.s.
90´	(mg/dl)	110,7 ± 39,9	134,2 ± 35,4	n.s.
120´	(mg/dl)	91,2 ± 26,3	125,3 ± 27,3	p=0,007

Insulin	0´	(μ U/ml)	8,5 \pm 3,2	13,3 \pm 4,8	p=0,008
	30´	(μ U/ml)	90,9 \pm 51,3	94,5 \pm 72,0	n.s.
	60´	(μ U/ml)	132,0 \pm 80,4	117,6 \pm 76,7	n.s.
	90´	(μ U/ml)	84,5 \pm 70,4	97,9 \pm 80,8	n.s.
	120´	(μ U/ml)	55,6 \pm 54,3	107,4 \pm 74,3	p=0,036
C-Pep	0´	(ng/ml)	1,7 \pm 0,9	2,8 \pm 1,2	p=0,030
	30´	(ng/ml)	7,1 \pm 3,1	7,7 \pm 3,4	n.s.
	60´	(ng/ml)	9,7 \pm 3,1	10,0 \pm 3,2	n.s.
	90´	(ng/ml)	8,6 \pm 3,1	10,4 \pm 3,5	n.s.
	120´	(ng/ml)	7,2 \pm 3,9	10,5 \pm 3,6	n.s.
FFA	0´	(μ mol/l)	324,3 \pm 148,7	403,7 \pm 209,0	n.s.
	30´	(μ mol/l)	263,5 \pm 157,8	288,6 \pm 179,0	n.s.
	60´	(μ mol/l)	97,2 \pm 89,2	131,3 \pm 81,2	n.s.
	90´	(μ mol/l)	46,8 \pm 49,3	70,1 \pm 52,9	n.s.
	120´	(μ mol/l)	31,4 \pm 28,7	42,8 \pm 27,8	n.s.
TG	0´	(mg/dl)	412,5 \pm 234,6	338,3 \pm 244,1	n.s.
	30´	(mg/dl)	398,1 \pm 222,0	316,7 \pm 226,8	n.s.
	60´	(mg/dl)	395,0 \pm 209,9	313,8 \pm 220,5	n.s.
	90´	(mg/dl)	385,3 \pm 207,3	308,0 \pm 207,1	n.s.
	120´	(mg/dl)	389,6 \pm 215,6	307,3 \pm 227,3	n.s.
Insulinfläche		(μ U/ml)	371,4 \pm 231,8	430,7 \pm 279,3	n.s.
C-Pep.-Fl.		(ng/ml)	34,3 \pm 12,9	41,4 \pm 13,5	n.s.
FFA-Fläche		(μ mol/l)	585,2 \pm 444,5	713,5 \pm 522,1	n.s.
männlich		(n)	13	4	--
weiblich		(n)	3	5	--

FFA-Kollektiv, n = 25 (30´ = zum Zeitpunkt 30 min, C-Pep = C-Peptid, FFA = freie Fettsäuren, TG = Triglyceride, Insulinfläche = Fläche unter der Insulinkurve, C-Pep.-Fl. = Fläche unter der C-Peptid-Kurve, FFA-Fläche = Fläche unter der FFA-Kurve, n. s. = nicht signifikant, NGT = normale Glukosetoleranz). Die Glukose-Werte wurden selbst gemessen.

Tab. 17: Patienten gesamt

		Ala/Ala	Ala/Thr	Thr/Thr	Sig.
Patienten	(n)	50	41	10	--
BMI	(kg/m ²)	27,5 ± 3,1	28,4 ± 4,0	27,3 ± 4,7	n.s.
Alter	(Jahre)	48,6 ± 11,5	46,9 ± 9,7	46,1 ± 7,5	n.s.
TG	(mg/dl)	409,6 ± 285,7	476,8 ± 396,2	592,6 ± 546,9	n.s.
Chol. ges.	(mg/dl)	264,8 ± 65,2	264,1 ± 64,5	284,7 ± 77,2	n.s.
HDL	(mg/dl)	34,8 ± 11,3	37,3 ± 11,1	34,7 ± 8,3	n.s.
Glukose	0' (mg/dl)	92,1 ± 11,7	95,9 ± 16,0	90,6 ± 15,8	n.s.
	60' (mg/dl)	171,5 ± 49,1	183,1 ± 62,3	166,3 ± 43,3	n.s.
	120' (mg/dl)	126,1 ± 36,9	138,2 ± 43,9	118,4 ± 22,3	n.s.
männlich	(n)	41	33	7	--
weiblich	(n)	9	8	3	--
NGT	(n)	37	22	8	--
IGT	(n)	11	16	2	--
DM	(n)	2	3	0	--

Hier ist n = 101, d. h. das gesamte FFA- und Akten-Probandenkollektiv. Es wurden keine Signifikanzen gefunden, verwendet wurde der Mann-Whitney-U-Test (60' = zum Zeitpunkt 60 min, Sig. = statistische Signifikanz, TG = Triglyceride, Chol. ges. = Cholesterin gesamt, NGT = normale Glukosetoleranz, DM = Diabetes mellitus).

Tab. 18: FFA-Kollektiv gesamt

	Ala/Ala	Ala/Thr+Thr/Thr	Signifikanz
Patienten (n)	8	17	--
BMI (kg/m ²)	28,6 ± 3,0	28,6 ± 4,1	n.s.
Alter (Jahre)	48,0 ± 11,4	45,4 ± 10,3	n.s.
HDL (mg/dl)	37,4 ± 10,8	38,4 ± 10,1	n.s.
Glu 0' (mg/dl)	72,8 ± 8,2	93,9 ± 17,1	p=0,014
30' (mg/dl)	144,0 ± 11,1	155,2 ± 31,5	n.s.
60' (mg/dl)	158,5 ± 38,8	150,5 ± 47,1	n.s.
90' (mg/dl)	125,1 ± 30,2	116,4 ± 43,5	n.s.
120' (mg/dl)	94,7 ± 20,9	107,6 ± 34,5	n.s.
Insulin 0' (µU/ml)	9,0 ± 2,4	12,2 ± 6,7	n.s.
30' (µU/ml)	83,5 ± 49,9	96,3 ± 62,6	n.s.
60' (µU/ml)	126,2 ± 82,3	127,1 ± 78,1	n.s.
90' (µU/ml)	100,2 ± 84,4	84,2 ± 69,1	n.s.
120' (µU/ml)	72,1 ± 58,7	75,2 ± 70,6	n.s.
C-Pep 0' (ng/ml)	1,8 ± 0,6	2,3 ± 1,3	n.s.
30' (ng/ml)	7,0 ± 2,9	7,4 ± 3,4	n.s.
60' (ng/ml)	9,9 ± 3,2	9,7 ± 3,1	n.s.
90' (ng/ml)	9,7 ± 3,2	9,0 ± 3,5	n.s.
120' (ng/ml)	8,6 ± 3,4	8,3 ± 4,4	n.s.
FFA 0' (µmol/l)	423,9 ± 153,6	319,5 ± 175,5	n.s.
30' (µmol/l)	372,1 ± 146,8	225,7 ± 151,3	p=0,018
60' (µmol/l)	139,8 ± 87,8	95,2 ± 84,3	n.s.
90' (µmol/l)	53,3 ± 42,1	56,0 ± 55,7	n.s.
120' (µmol/l)	38,5 ± 34,4	34,1 ± 26,1	n.s.
TG 0' (mg/dl)	378,9 ± 258,9	389,0 ± 232,4	n.s.
30' (mg/dl)	365,8 ± 249,1	370,2 ± 217,2	n.s.
60' (mg/dl)	359,4 ± 234,3	368,8 ± 209,6	n.s.
90' (mg/dl)	347,3 ± 229,1	362,2 ± 202,1	n.s.
120' (mg/dl)	359,7 ± 251,2	360,1 ± 210,4	n.s.
Chol 0' (mg/dl)	273,3 ± 136,6	246,7 ± 44,6	n.s.
30' (mg/dl)	260,6 ± 116,4	234,7 ± 39,6	n.s.

60' (mg/dl)	247,1 ± 95,4	233,0 ± 43,4	n.s.
90' (mg/dl)	243,8 ± 92,5	230,1 ± 40,2	n.s.
120' (mg/dl)	254,3 ± 108,4	232,9 ± 41,8	n.s.
Insfl. (μU/ml)	391,0 ± 251	393,6 ± 251,0	n.s.
C-Pep-Fl. (ng/ml)	37,0 ± 12,4	36,8 ± 14,0	n.s.
männlich (n)	5	12	--
weiblich (n)	3	5	--
NGT (n)	6	10	--
IGT (n)	2	7	--
DM (n)	0	0	--

Zusammenfassende Wertetabelle für die prospektiven Probanden (n = 25). Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test (Glukose) und dem t-Test nach log-Transformierung (FFA = freie Fettsäuren) berechnet (Glu = Glukose, C-Pep = C-Peptid, TG = Triglyceride, Chol = Cholesterin gesamt, Insfl = Fläche unter der Insulinkurve, C-Pep-Fl. = Fläche unter der C-Peptid-Kurve, NGT = normale Glukosetoleranz, n. s. = nicht signifikant).

Tab. 19: FFA-Kollektiv mit normaler GT

	Ala/Ala	Ala/Thr+Thr/Thr	Signifikanz
Patienten (n)	6	10	--
BMI (kg/m ²)	28,5 ± 3,11	28,0 ± 4,6	n.s.
Alter (Jahre)	48,0 ± 12,0	41,8 ± 9,5	n.s.
HDL (mg/dl)	34,8 ± 11,3	39,0 ± 10,8	n.s.
Glu 0' (mg/dl)	69,7 ± 6,9	91,9 ± 21,1	p=0,007
30' (mg/dl)	143,8 ± 12,3	156,4 ± 28,1	n.s.
60' (mg/dl)	161,3 ± 43,8	148,3 ± 46,8	n.s.
90' (mg/dl)	127,5 ± 33,7	100,6 ± 41,5	n.s.
120' (mg/dl)	88,9 ± 21,1	92,5 ± 30,1	n.s.
Insulin 0' (μU/ml)	8,8 ± 2,8	8,3 ± 3,5	n.s.
30' (μU/ml)	92,9 ± 55,3	89,7 ± 51,7	n.s.
60' (μU/ml)	134,7 ± 93,3	130,3 ± 77,0	n.s.
90' (μU/ml)	114,4 ± 94,4	66,6 ± 48,6	n.s.
120' (μU/ml)	76,4 ± 68,8	43,1 ± 42,6	n.s.

C-Pep 0´ (ng/ml)	1,9 ± 0,7	1,6 ± 1,0	n.s.
30´ (ng/ml)	7,6 ± 3,0	6,7 ± 3,3	n.s.
60´ (ng/ml)	10,7 ± 3,3	9,0 ± 2,9	n.s.
90´ (ng/ml)	10,8 ± 2,9	7,3 ± 2,6	p=0,03
120´ (ng/ml)	9,2 ± 3,8	6,0 ± 3,7	n.s.
FFA 0´ (µmol/l)	373,9 ± 105,1	294,6 ± 167,7	n.s.
30´ (µmol/l)	348,5 ± 113,4	212,5 ± 163,3	p=0,04
60´ (µmol/l)	118,8 ± 92,6	84,2 ± 89,4	n.s.
90´ (µmol/l)	38,1 ± 33,8	52,0 ± 57,8	n.s.
120´ (µmol/l)	32,4 ± 30,9	30,8 ± 29,0	n.s.
TG 0´ (mg/dl)	433,2 ± 282,1	400,1 ± 216,9	n.s.
30´ (mg/dl)	419,2 ± 270,2	385,5 ± 202,8	n.s.
60´ (mg/dl)	409,5 ± 254,2	386,3 ± 193,1	n.s.
90´ (mg/dl)	397,5 ± 247,3	378,0 ± 193,7	n.s.
120´ (mg/dl)	415,6 ± 270,1	374,1 ± 190,3	n.s.
Chol 0´ (mg/dl)	305,3 ± 145,4	255,0 ± 39,7	n.s.
30´ (mg/dl)	289,7 ± 121,5	240,7 ± 32,7	n.s.
60´ (mg/dl)	272,9 ± 97,0	240,4 ± 37,5	n.s.
90´ (mg/dl)	268,6 ± 94,3	233,9 ± 33,6	n.s.
120´ (mg/dl)	284,0 ± 110,2	240,8 ± 35,2	n.s.
Insfl. (µU/ml)	427,2 ± 285,1	338,0 ± 202,7	n.s.
C-Pep-Fi. (ng/ml)	40,2 ± 12,7	30,7 ± 12,2	n.s.
männlich (n)	4	9	--
weiblich (n)	2	1	--

Zusammenfassung der Werte für die FFA-Probandengruppe mit normaler Glukosetoleranz (n = 16). Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test (Glukose, C-Peptid) und dem t-Test nach log-Transformierung berechnet. Abkürzungen siehe Kommentar zu Tabelle 18.

Tab. 20: FFA-Kollektiv mit IGT

	Ala/Ala	Ala/Thr+Thr/Thr	Signifikanz
Patienten (n)	2	7	--
BMI (kg/m ²)	29,1 ± 4,0	29,6 ± 3,2	n.s.
Alter (Jahre)	48,0 ± 14,1	50,4 ± 9,8	n.s.
HDL (mg/dl)	36,0 ± 2,8	37,6 ± 9,9	n.s.
Glu 0' (mg/dl)	82,2 ± 0,8	97,9 ± 12,5	n.s.
30' (mg/dl)	144,6 ± 10,3	153,4 ± 38,2	n.s.
60' (mg/dl)	150,0 ± 27,6	153,7 ± 51,2	n.s.
90' (mg/dl)	117,8 ± 23,2	138,9 ± 38,3	n.s.
120' (mg/dl)	118,8 ± 7,4	129,1 ± 30,1	n.s.
Insulin 0' (μU/ml)	9,6 ± 0,4	14,4 ± 5,0	n.s.
30' (μU/ml)	55,4 ± 4,7	105,7 ± 79,1	n.s.
60' (μU/ml)	100,9 ± 47,2	122,4 ± 85,7	n.s.
90' (μU/ml)	57,8 ± 22,8	109,4 ± 89,1	n.s.
120' (μU/ml)	59,2 ± 0,4	121,2 ± 79,8	n.s.
C-Pep 0' (ng/ml)	1,4 ± 0,5	3,2 ± 1,1	p=0,04
30' (ng/ml)	5,1 ± 1,9	8,5 ± 3,5	n.s.
60' (ng/ml)	7,4 ± 0,2	10,7 ± 3,2	n.s.
90' (ng/ml)	6,5 ± 0,3	11,5 ± 3,2	n.s.
120' (ng/ml)	6,7 ± 1,2	11,6 ± 3,3	n.s.
FFA 0' (μmol/l)	574,0 ± 223,4	355,1 ± 193,6	n.s.
30' (μmol/l)	442,8 ± 270,5	244,5 ± 142,6	n.s.
60' (μmol/l)	202,7 ± 26,9	110,9 ± 80,5	n.s.
90' (μmol/l)	99,0 ± 33,7	61,8 ± 56,5	n.s.
120' (μmol/l)	56,7 ± 51,4	38,8 ± 22,5	n.s.
TG 0' (mg/dl)	216,0 ± 25,5	373,3 ± 270,0	n.s.
30' (mg/dl)	205,5 ± 27,6	348,5 ± 251,3	n.s.
60' (mg/dl)	209,0 ± 29,7	343,7 ± 244,8	n.s.
90' (mg/dl)	196,8 ± 36,4	339,8 ± 227,3	n.s.
120' (mg/dl)	192,0 ± 42,4	340,2 ± 250,8	n.s.
Chol 0' (mg/dl)	177,5 ± 20,6	234,7 ± 51,7	n.s.
30' (mg/dl)	173,2 ± 26,6	226,2 ± 49,5	n.s.

60´ (mg/dl)	169,6 ± 26,8	222,5 ± 52,0	n.s.
90´ (mg/dl)	169,3 ± 25,9	224,7 ± 50,5	n.s.
120´ (mg/dl)	166,0 ± 19,6	221,7 ± 50,6	n.s.
Insfl. (µU/ml)	282,8 ± 66,2	473,0 ± 306,4	n.s.
C-Pep-FI. (ng/ml)	27,1 ± 4,1	45,4 ± 12,4	n.s.
männlich (n)	1	3	--
weiblich (n)	1	4	--

Auflistung der Werte der FFA-Probandengruppe mit herabgesetzter Glukosetoleranz (IGT: n = 9). Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Abkürzungen siehe Kommentar zu Tabelle 18.

IV. Diskussion

1. Fallzahlen und Patienten-Kollektive

Ziel dieser Arbeit war zu überprüfen, ob ein Zusammenhang zwischen einer pathologischen Glukosetoleranz bzw. höheren Glukose-Werten im OGTT und einem Fatty Acid-Binding Protein 2-Gen-Polymorphismus (Ala54Thr) in einem für diesen Zweck ausreichend großen Kollektiv deutscher Patienten besteht.

Eine ausreichend große Probandenzahl (angestrebte war zunächst eine $n_{\text{gesamt}} = 40$) konnte zunächst kaum erreicht werden: Es konnten im vorgegebenen Zeitrahmen nur 25 Patienten selbst untersucht werden (FFA-Kollektiv), vor allem wegen Schwierigkeiten bei der Rekrutierung. So wurde ein OGTT nur durchgeführt, wenn er für die Patienten klinisch sinnvoll und nicht erst vor kurzem durchgeführt worden war. Dies war bei vielen Patienten der Lipidstoffwechselambulanz jedoch der Fall. Einige geeignete Patienten waren trotzdem nicht mit einem OGTT ($n = 7$) oder einem venösen Zugang ($n = 6$) einverstanden.

Deshalb mussten die Einschlusskriterien gelockert werden. Es wurden fortan nicht nur Patienten mit einer IGT eingeschlossen (neues Einschlusskriterium nüchtern-BZ ≥ 90 statt 110 mg/dl), sondern auch Patienten mit abnormem ApoE.

Um die Aussage der Arbeit zu verbessern, wurde das Kollektiv um 76 Patienten erweitert: Aus Patientenakten der Fettstoffwechselambulanz des Universitäts-Krankenhauses Eppendorf konnten in 76 Fällen die nötigen Werte (z. B. OGTT mit 3 Messungen, Nüchtern-Insulin vom selben Tag) zusammengetragen sowie die DNA-Proben (für die FABP2-Genotypisierung) zugeordnet werden. Von diesen 76 retrospektiven/Akten-Patienten hatten alle mindestens eine genotypisch normale Isoform 3 des Apolipoproteins E.

Das Gesamtkollektiv hat also eine Größe von 101 Probanden.

Beim Vergleich der wichtigsten anthropometrischen, anamnestischen und laborchemischen Parameter traten zwischen den FFA- und Akten-Probanden keine statistisch signifikanten Unterschiede auf, so dass von einer guten Vergleichbarkeit und Homogenität innerhalb des gesamten Patientenkollektivs ausgegangen werden kann (siehe Tab. 8).

Das Ziel, ein Kollektiv mit gemischter Hyperlipoproteinämie zu rekrutieren konnte erreicht werden (siehe Tabelle 8, Grenzwerte siehe Tabellen 4ff).

Das mittlere Alter aller Probanden (47,7 Jahre) scheint geeignet für diese Untersuchung, da der Manifestationsgipfel eines Diabetes mellitus Typ 2 in den USA auf die Altersgruppe 51 - 55 Jahre fällt [Eggstein 1994].

Das Patientenkollektiv wurde weiter in eine Gruppe mit IGT (29 % des Gesamtkollektivs, siehe Tab. 8) und eine Gruppe mit normaler Glukosetoleranz unterteilt. Als Kriterium hierfür wurde die Empfehlung der American Diabetes Association verwendet [Expert Committee on the Diagnosis of Diabetes Mellitus 1997], d. h. eine IGT besteht ab 140 mg/dl Glukose im Zwei-Stunden-Wert des OGTT, bestimmt aus kapillärem Plasma. Dieser wurde bei allen Probanden vom Zentrallaboratorium des UKE bestimmt. Der bei den prospektiven Patienten aus venösem Serum bestimmte Glukose-Wert wurde hierfür nicht verwendet, weil dieser bei den retrospektiven Patienten nicht vorlag, außerdem traten bei der selbst durchgeführten Messung Probleme auf (siehe nächstes Kapitel).

2. Glukose-Messung

Im FFA-Kollektiv wurde die Glukose während des OGTT selbst, zu fünf Zeitpunkten aus Serum spektrophotometrisch bestimmt. In Tab. 16 fällt auf, dass der Zwei-Stunden-Mittelwert des OGTT im FFA-Kollektiv mit IGT nur 125 mg/dl beträgt. Wie ist das zu erklären?

Einerseits wurde das IGT-Kollektiv durch den Zwei-Stunden-Wert der durch das UKE-Labor gemessenen Blutglukose definiert, außerdem wurde im Verlauf der Arbeit klar, dass ein Glukose-Messfehler vorlag, der nicht genau identifiziert und behoben werden konnte.

Die selbst gemessenen Glukosespiegel waren zu niedrig. Da die Proben rasch verarbeitet wurden (Zentrifugation nach Entnahme, Verarbeitung des gekühlten Serums am Entnahmetag), kam als mögliche Ursache eine Hämolyse durch Probenentnahme aus einer Venenverweilkanüle in Frage. Die falsch niedrigen Glukosewerte wären durch Glykolyse zu erklären.

Aber auch dies erscheint unwahrscheinlich, da bei einem Vergleich der Messwerte (selbst gemessen vs. vom Labor gemessen) auffiel, dass unsere Werte statistisch signifikant (t-Test) durchschnittlich 25 mg/dl unter denen des Zentrallabors lagen. Wir gingen also von einem unbekanntem Systemfehler mit erhaltener Vergleichbarkeit der Werte aus und entschlossen uns, die Werte weiter zur

Auswertung zu verwenden mit dem Vorteil, mit fünf (statt drei) Zeitpunkten/Messwerten arbeiten zu können.

Ein derartiges Problem trat ausschließlich bei der Glukose-Messung auf.

3. Vergleich zwischen NGT- und IGT-Gruppe

Im FFA-Kollektiv fanden sich neun Probanden mit IGT (definiert durch den Zwei-Stunden-Wert, gemessen vom Zentrallabor (siehe Kap. IV.2.).

Bei Betrachtung der Insulinkurve (Abb. 9) wird deutlich, dass bei diesen neun Probanden mit IGT die Insulin-Frühsekretion erst gleich (Zeitpunkt 30 Minuten), dann herabgesetzt (Zeitpunkt 60 Minuten, nicht signifikant), aber die Spätsekretion stärker ist (Zeitpunkt 120 Minuten, signifikant), als bei denen mit NGT. Dies beschreibt den im Stadium der IGT gestörten zeitlichen Ablauf der Insulinantwort: In der Frühphase der Sekretion ist die Insulinmenge vermindert, die in der Spätphase folgende Insulinantwort ist überschießend [Tripathy 2000, Kahn 2001]. Analog finden sich beim C-Peptid deutlich höhere Spiegel der IGT-Gruppe zum Zeitpunkt 90 und 120 Minuten (nicht signifikant).

Die Flächen unter der C-Peptid- und unter der Insulin-Kurve (als Maß für die Insulinsekretion eines Probanden während des gesamten OGTT, siehe Tab. 16) sind bei der IGT-Gruppe zwar größer, aber ohne statistische Signifikanz. Grund hierfür könnten die zu kleinen Fallzahlen sein ($n = 25$).

In Zusammenschau mit der Glukosekurve (siehe Abb. 8), die nach 60 Minuten auseinanderklafft und wo der 120 Minuten-Wert signifikant erhöht ist, lässt sich feststellen, dass bei diesen Patienten eher eine Insulinresistenz, als ein Sekretionsdefekt in der Frühphase für die IGT verantwortlich sein dürfte. Dies deckt sich mit den HOMA-IR-Werten (siehe Abb. 11), die eine signifikant höhere Insulinresistenz der IGT-Gruppe belegen.

Die Schlussfolgerung hieraus ist, dass ein für diese Untersuchung geeignetes Kollektiv vorliegt, da neun Probanden mit einer IGT rekrutiert werden konnten, die Zeichen einer Insulinresistenz aufweisen.

Bei den neun untersuchten Patienten mit IGT sind die Mittelwerte der freien Fettsäuren zwar zu allen Zeiten höher, aber nicht statistisch signifikant (siehe Abb. 12). Das gleiche gilt für die Fläche unter der FFA-Kurve (siehe Tab. 16). Grund hierfür könnte wieder die zu kleine Fallzahl sein, oder die sezernierten Insulinkonzentrationen reichten noch aus, um die freien Fettsäuren zu supprimieren. Bei

den Triglyceriden lagen die Werte der IGT-Gruppe entgegen der Erwartung unter denen der Gruppe mit normaler Glukosetoleranz, jedoch geringfügig und ohne statistische Signifikanz. Das lässt sich dadurch erklären, dass fünf der insgesamt neun Probanden mit IGT zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits eine Diät einhielten und dadurch ihren Triglycerid-Spiegel senkten, oder durch die kleine Fallzahl.

Diese Beobachtungen sind plausibel: Insulinresistenz beinhaltet die Unfähigkeit, durch Insulin die Freisetzung von freien Fettsäuren zu unterdrücken. In Folge der Überladung des Organismus mit freien Fettsäuren steigert die Leber die Synthese von Lipoproteinen und Triglyceriden [Golay et al. 1988, Grundy 1998].

4. Thr54-Allelfrequenz

Die Thr54-Allelfrequenz im Gesamtkollektiv betrug bei Probanden mit NGT 0,29, bei Probanden mit IGT 0,35. Bei Männern trat das Thr54-Allel mit einer Häufigkeit von 0,29, bei Frauen mit einer Häufigkeit von 0,35 auf (siehe Tab. 12).

Die niedrigste Thr54-Allelfrequenz fand sich bei Männern mit normaler Glukosetoleranz (0,28), die höchste bei Frauen mit pathologischer Glukosetoleranz (0,38). Allerdings waren die Unterschiede wegen der geringen Fallzahl in den Untergruppen nicht signifikant.

Dieses Ergebnis könnte also auf eine mögliche Assoziation zwischen FABP2-Genpolymorphismus und einer pathologischen Glukosetoleranz hinweisen.

Da im Gesamtkollektiv nur 20 Frauen vertreten sind, dürfen die geschlechtsspezifischen Unterschiede der Thr54-Allelfrequenz nicht bewertet werden. Auch in einer Studie mit einer größeren Fallzahl ($n = 140$) konnte kein signifikanter, geschlechtsspezifischer Unterschied der Thr54-Allelfrequenz gefunden werden [Baier et al. 1995].

Wie aus Tabelle 21 ersichtlich, ist die Thr54-Allelfrequenz der Teilnehmer dieser Studie vergleichbar mit der aus anderen Arbeiten.

Tab. 21: Thr54-Allelfrequenz im Vergleich mit anderen Studien

Studie	FABP2-Genotyp			Thr54-Allelfrequenz
	Ala/Ala	Ala/Thr	Thr/Thr	
Yamada (395 Japaner)	43,5 %	44,6 %	11,9 %	0,34
Tahvanainen (666 Europäer)	52,6 %	40,7 %	6,8 %	0,27
Baier (760 Pima-Indianer)	--	--	--	0,29
Baier (457 Pimas, Ø DM)	47,7 %	45,3 %	7 %	0,30
Kidder (101 Deutsche)	48,5 %	40,6 %	9,9 %	0,30

Kidder = diese Arbeit, Ø DM = Nichtdiabetiker, -- = keine Angabe [Yamada et al. 1997, Tahvanainen et al. 2000, Baier et al. 1995].

5. FABP2-Genotyp und Glukosestoffwechsel

Wenn man das Gesamtkollektiv (n = 101) betrachtet, finden sich keine signifikant höheren Glukose-Werte (gemessen vom Zentrallabor) während des OGTT bei den für das Thr54-Allel homozygoten Probanden (n = 10, siehe Abb. 13). Im Gegenteil, sie liegen am niedrigsten. Zwar liegen die Mittelwerte der für die Mutation heterozygoten über denen des Wildtyps, jedoch ohne dabei statistisch signifikant zu sein. Auch wenn man die Untergruppen (FFA-Kollektiv, FFA-Kollektiv mit IGT/NGT) betrachtet (siehe Abb. 14 - 16), entdeckt man keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Gruppen. Wenn man die hetero- und homozygoten Träger des Codon 54-Polymorphismus (Ala/Thr und Thr/Thr) unter der Annahme eines dominanten Rollenmodells zusammenfasst, bevor man sie mit der Wildtypgruppe (Ala/Ala) vergleicht, findet man außer für den Nüchternglukose-Wert ebenfalls keine Signifikanzen (siehe Abb. 15 und 16). Ein dominantes Rollenmodell wird unter der Vorstellung angenommen, dass auch das polymorphe Codon Ala54Thr zur Synthese eines lipophileren intestinalen fatty acid binding protein (IFABP) führt [Baier et al. 1995].

Es konnte also kein Zusammenhang zwischen einer pathologischen Glukosetoleranz bzw. höheren Glukose-Werten im OGTT und Ala54Thr bei Deutschen Patienten festgestellt werden.

Da eine Insulinresistenz mit kompensatorischer Hochregulation der Insulinsekretion einer pathologischen Glukosetoleranz vorausgeht [Sims et al. 1973, Lauro et al. 1998], muss auch geprüft werden, ob eine Assoziation zwischen Ala54Thr und einer Insulinresistenz, bzw. einem erhöhten Insulinspiegel besteht.

Um die Insulinresistenz unserer Probanden zu ermitteln, benutzten wir den HOMA-IR-Wert (siehe I.4.1.).

Die Auswertung der HOMA-IR-Werte unserer Probanden ergab folgendes Bild: In der Gesamtgruppe (n = 39) war HOMA-IR der Probanden, die heterozygot für das Thr54-Allel sind, statistisch signifikant höher, als derer, die homozygot für das Ala54-Allel sind. Für Ala/Ala und Thr/Thr galt dasselbe (siehe Abb. 19). Wenn die Gruppe verkleinert wurde auf Probanden mit NGT (n = 27), blieb die erwartete Treppenform in der graphischen Auswertung erhalten (siehe Abb. 20), aber ohne statistische Signifikanz. In der Gruppe mit IGT wurden schließlich aufgrund der kleinen Fallzahlen die Träger des Thr54-Allels zusammengefasst (Ala/Thr + Thr/Thr). Diese hatten wieder einen statistisch signifikant höheren HOMA-IR-Wert, als die für den homozygoten Wildtyp genotypisierten Probanden (Ala/Ala, siehe Abb. 21).

Die Probanden mit dem Thr54-Allel hatten einen höheren HOMA-IR-Wert, d. h. eine größere Insulinresistenz, als jene mit dem Ala54-Allel. Die Unterschiede waren statistisch signifikant, nur nicht in der Gruppe mit normaler Glukosetoleranz. Das blieb auch nach Zusammenfassung der Thr54-Allel-Träger so (siehe Tab. 10), der Grund liegt wahrscheinlich in der zu kleinen Fallzahl.

Die Insulinspiegel der Thr54-Allelträger (n = 17 im gesamten prospektiven Kollektiv) waren leicht höher als die, der für das Ala54-Allel Homozygoten (n = 8), d. h. die Mittelwerte waren bei diesen zu fast allen Zeitpunkten des OGTT höher, jedoch nicht statistisch signifikant (siehe Tab. 15). Die Flächen unter der Insulin-/C-Peptid-Kurve im FFA-Kollektiv waren annähernd gleich groß (siehe Tab. 18). Die Betrachtung in den Untergruppen (NGT/IGT) ist wegen der kleinen Fallzahlen nicht sinnvoll.

Es fanden sich also Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Ala54Thr und Insulinresistenz, jedoch keine Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Ala54Thr und erhöhtem Insulinspiegel.

Diese Ergebnisse decken sich im ersten Punkt mit der Literatur. Die wichtigsten Arbeiten zu diesem Thema sollen kurz vorgestellt werden. Yamada et al. untersuchten 392 japanische Männer ohne erhöhte Nüchternblutglukose mit dem HOMA-Verfahren auf Insulinresistenz. Außerdem genotypisierte man die Probanden für das FABP 2-Gen und maß die intraabdominelle Fettdicke mit einem Ultraschall-Gerät. Man kam zu dem Ergebnis, dass die für das Thr54-Allel homozygoten Probanden einen höheren HOMA-IR-Wert hatten, also insulinresistenter waren. Außerdem lag das Nüchtern-Insulin höher und die Messung des intraabdominellen Fettes ergab höhere Werte. Im Rahmen eines OGTT wurde keine Assoziation zwischen einer IGT und dem Thr54-Allel festgestellt [Yamada et al. 1997].

Baier et al. kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass für das Thr54-Allel Homozygote insulinresistenter waren und einen höheren Nüchtern-Insulin-Wert aufwiesen. Man untersuchte 137 nichtdiabetische Pima-Indianer mit der hyperinsulinämischen, euglykämischen clamp-Technik [Lillioja et al. 1991]. In vitro beobachtete man das Bindungsverhalten des Genproduktes von FABP2 und fand heraus, dass Threonin enthaltendes IFABP eine zweifach höhere Affinität zu langkettigen Fettsäuren hatte [Baier et al. 1995].

Ebenfalls mit der hyperinsulinämischen, euglykämischen clamp-Technik untersuchten Pihlajamäki et al. 58 finnische Patienten mit familiärer kombinierter Hyperlipidämie (FCHL), bzw. Verwandte ersten Grades von mindestens zwei Patienten mit FCHL. Man fand jedoch keine Korrelation zwischen FABP2-Genotyp und einer Insulinresistenz. Als möglichen Grund für dieses Ergebnis wird die unterschiedliche Abstammung der jeweils untersuchten Patienten diskutiert. Nach Fraktionierung der Lipoproteine und Bestimmung von Cholesterin und den Triglyceriden, fanden sich bei Trägern des Thr54-Allels höhere Triglyceridanteile in den LDL- und HDL-Fraktionen. Da kleine und dichte (also atherogene) LDL-Partikel mit einem hohen Triglyceridanteil assoziiert sind [Laasko et al. 1990], postuliert man einen Zusammenhang zwischen dem Thr54-Allel und dem Auftreten von Dyslipidämien bei Patienten mit FCHL. Leider finden sich in dieser Arbeit keine Ergebnisse eines ebenfalls durchgeführten OGTT [Pihlajamäki et al. 1997].

In einer weiteren Arbeit zu diesem Thema untersuchten Mitchell et al. 382 mexikanisch-stämmige Amerikaner, die man für das FABP2-Gen typisierte. Im

Rahmen eines OGTT wurde der Nüchtern- und 2-Stunden-Insulinwert bestimmt. Die Probanden ohne Thr54-Allel zeigten signifikant niedrigere 2-Stunden-Werte für Insulin, so dass eine Assoziation des FABP2-Gens mit einer Insulinresistenz postuliert wurde [Mitchell et al. 1995].

Galluzzi et al. untersuchten die Assoziation des FABP2-Genotyps mit Glukose- und Insulin-Plasmaspiegeln (jeweils nüchtern und nach Belastung), HbA1c und dem Vorliegen eines Diabetes mellitus bei insgesamt 1684 Probanden (762 Männer und 922 Frauen, alle kaukasischer Abstammung und Teilnehmer der Framingham Offspring Study) [Galluzzi et al. 2001]. Ergebnis dieser Studie: Nur Frauen, die Trägerinnen eines Thr54-Allels sind, hatten einen signifikant höheren Insulinspiegel nach Belastung (2 Stunden), im Vergleich zu den Nicht-Trägerinnen. Auch hier kam man zu dem Schluss, dass das Vorhandensein des Thr54-Allels einen wenn, dann nur geringen förderlichen und geschlechtsspezifischen Einfluss auf die Entwicklung einer Insulinresistenz (und hiermit eines metabolischen Syndroms) haben könnte.

Zusammenfassend stellt man fest, dass sich auch in der Literatur keine Anzeichen für einen Zusammenhang zwischen dem Thr54-Allel und einer pathologischen Glukosetoleranz, wohl aber einer Insulinresistenz (stark) und erhöhtem Insulinspiegel (schwach), finden lassen. Ala54Thr scheint in verschiedenen Populationen verschiedene Effekte auf die Glukosehomöostase zu haben. Auch gibt es Anzeichen dafür, dass sich dieser Polymorphismus bei Männern und Frauen klinisch unterschiedlich auswirkt.

Insgesamt bestätigen diese Ergebnisse den Tenor der aktuellen Literatur, mit der Ausnahme, dass sich im untersuchten Kollektiv keine Assoziation zwischen Ala54Thr und erhöhtem Insulinspiegel finden ließ. Grund könnte ein eher schwacher Effekt (siehe Literatur) und die kleine Fallzahl sein, oder die Annahme, dass in diesem Kollektiv Teilnehmer mit einer exzessiven Insulinsekretion schlecht und solche mit einer bereits nachlassenden Insulinsekretion gut repräsentiert ist. Diese Annahme wird gestützt durch den hohen Anteil an Patienten mit IGT (29 %).

Damit ist auch die Frage nach Eignung des FABP2-Gens als Kandidatengen beantwortet: Es scheint kein Kandidatengen für die Früherkennung eines T2DM zu sein, da sich - auch in den Ergebnissen dieser Arbeit - kein Anhalt dafür fand,

dass Ala54Thr mit einer pathologischen Glukosetoleranz assoziiert ist, die einem T2DM unmittelbar vorausgeht.

6. FABP2-Genotyp und Fettstoffwechsel

Die Plasmaspiegel der freien Fettsäuren verhielten sich auf den ersten Blick völlig entgegengesetzt zur Erwartung. Diese war, dass wenn die Polymorphismusträger insulinresistenter als die Probanden ohne Thr54-Allel wären, davon auszugehen sei, dass erstgenannte höhere Spiegel an freien Fettsäuren zeigten, da bei diesen die Lipolyse nicht suffizient unterdrückt werden könnte. Insulin hemmt die Lipoproteinlipase (LPL) und dadurch die Lipolyse [Stryer 1988]. Da die Thr54-Gruppe insulinresistenter ist, als die Ala54-Gruppe, sollte man erwarten, dass diese höhere Spiegel an FFA aufweist, die schlechter durch glukosevermittelte Insulinausschüttung zu unterdrücken sind.

Genau das Gegenteil war der Fall (siehe Abbildungen 22ff). Wie lässt sich dies erklären?

Die Insulinresistenz, wie wir sie bestimmt haben, stellt eine Ganzkörper-Insulinresistenz dar, in deren Berechnung nach dem HOMA-IR-Modell nur Nüchtern-insulin und -glukose eingehen. Eine gestörte Insulin(rezeptor)sensitivität spielt sich aber auf mehreren Organebenen ab: Vor allem betrifft sie die Skelettmuskulatur, die Leber und das Fettgewebe. Man kann sich also vorstellen, dass die Insulinresistenz nicht überall gleich stark ausgeprägt sein muss. Tatsächlich gibt es Anhalt dafür, dass gleichzeitig die Insulinsensitivität im Fettgewebe erhöht und die mehr oder weniger indirekt gemessene Ganzkörper-Insulinresistenz schon deutlich ausgeprägt sein kann [Hansen 1999, 1988]. Einerseits betrachtet man also die Ganzkörper-Insulinresistenz (hier HOMA-IR), die wohl hauptsächlich durch die mangelnde Insulinwirkung an Leber- und Skelettmuskelzellen verursacht wird, andererseits die FFA, deren Erniedrigung bei der Thr54-Gruppe gegen eine Insulinresistenz der Adipozyten spricht. Hier scheinen die (zwar nicht signifikant) höheren Insulinspiegel der Probanden mit dem Polymorphismus eine gute Hemmung der Lipolyse von Triglyceriden in Glycerin und FFA zu bewirken. Hierfür spricht auch, dass während des OGTT nach 30 Minuten, wenn die stärkste Insulinsekretion zu erwarten ist, die FFA-Spiegel bei der Thr54-Gruppe signifikant erniedrigt sind.

Wenn man die drei Genotypen in Bezug auf die freien Fettsäuren allerdings getrennt betrachtet (siehe Abb. 25), fällt auf, dass die Werte der Thr54-Homozygoten zu hoch liegen. Nach obigen Ausführungen würde man niedrigere Fettsäurespiegel, als die der Gruppe mit nur einem Thr54-Allel erwarten.

Die Thr/Thr-Gruppe wird aber hier durch nur zwei Probanden zu schlecht repräsentiert, um sinnvolle Vergleiche führen zu können.

In der Literatur konnte nur eine vergleichbare Studie gefunden werden: Nüchtern und während einer euglykämischen clamp-Untersuchung wurden die FFA-Spiegel von Ala54-homozygoten ($n = 26$) mit denen von Thr54-homozygoten ($n = 33$) Pima-Indianern verglichen. Die Werte waren bei den Thr54-Homozygoten diskret erhöht, ohne Signifikanz [Pihlajamäki et al. 1997].

Die Frage, ob ein additiver Effekt von ApoE-Polymorphismus und Ala54Thr auf den FFA-Spiegel (und somit auf den Glukosestoffwechsel) vorliegt, konnte mit der vorliegenden Studie nicht beantwortet werden, da die Fallzahl zu klein ist: Es fanden sich im FFA-Kollektiv nur drei Probanden mit ApoE 3/3 ohne Thr54 sowie fünf Probanden mit ApoE-Defekt und Thr54 (siehe Tab. 14).

Bei unseren Probanden zeigte sich außerdem keine Abhängigkeit der Nüchtern-Plasma-Triglyceride vom Vorhandensein des Thr54-Allels.

Da dieses zur Synthese eines lipophileren intestinal fatty acid binding protein (IFABP) führt [Baier et al. 1995], würde man unter der Annahme einer erhöhten Veresterung von vor allem langkettigen Fettsäuren höhere Triglyceridspiegel erwarten. So wurde beobachtet, dass das für Threonin kodierende Allel mit einem größeren BMI, mehr Körperfett und erhöhten Nüchtern-TG-Spiegeln bei Kanadiern [Hegele et al. 1996, 1997], sowie mit höheren TG-Werten nach einer Fettbelastung bei Finnen [Pihlajamäki et al. 1997, Agren et al. 2001] assoziiert ist.

Wie können die eigenen Ergebnisse erklärt werden? Wahrscheinlich wäre ein derartiger Zusammenhang besser im Rahmen einer Fettbelastung zu überprüfen gewesen. Unsere Probanden waren mindestens 12 Stunden nüchtern, bevor mit dem OGTT begonnen wurde. Dieses Argument wird aber dadurch entkräftet, dass in der multizentrischen Studie von Tahvanainen et al. mit einer guten Fallzahl ($n = 666$) auch keine derartige Verknüpfung, selbst nach einem Fettbelastungstest, aufgezeigt werden konnte. Das Probandenkollektiv bestand hier aus Europäern [Tahvanainen 2000].

Die fehlende Assoziation zwischen Thr54-Allel und Nüchtern-Triglyceridspiegel bei vorliegender Studie könnte ihre Ursache am ehesten in der Polygenität der Hypertriglyceridämie haben, d. h. der kleine Effekt eines einzelnen Gens kann nur in einem weitaus größeren Probandenkollektiv nachgewiesen werden.

V. Zusammenfassung

In dieser Studie wurden erstmals 101 Deutsche Patienten mit gemischter Hyperlipoproteinämie für das FABP2-Gen genotypisiert und geprüft, ob der Ala54-Thr-Polymorphismus mit einer pathologischen Glukosetoleranz assoziiert ist. Etwas weiter gefasst lautete die Frage: Ist das FABP2-Gen ein Kandidatengen mit Einfluss auf die Entwicklung einer Insulinresistenz und damit eines metabolischen Syndroms und eines Diabetes mellitus Typ 2?

Das Ergebnis dieser Arbeit ist: Das FABP2-Gen ist kein dafür geeignetes Kandidatengen.

Zwar war die Thr54-Allelfrequenz im IGT-Kollektiv (ohne Signifikanz) erhöht, jedoch konnte keine Assoziation zwischen dem Thr54-Allel und einer pathologischen Glukosetoleranz gefunden werden. Allerdings bestätigt diese Studie, dass das Thr54-Allel einen schwach positiven Effekt auf die Entwicklung einer Insulinresistenz (bestimmt mit HOMA-IR) haben könnte.

Das passt zur aktuellen Literatur, die außerdem Hinweise dafür liefert, dass Ala54Thr geschlechts- und populationsspezifische Effekte haben kann.

Die Frage, ob ein additiver Effekt von ApoE-Polymorphismus und Ala54Thr auf den Glukose- und Triglyzeridstoffwechsel besteht, konnte mit der vorliegenden Studie aufgrund einer zu kleinen Fallzahl nicht beantwortet werden.

Wegen des anzunehmenden schwachen Effekts von Ala54Thr auf die Entwicklung einer Insulinresistenz und damit einer pathologischen Glukosetoleranz wären zur Klärung oben genannter Fragen weitere Studien an wesentlich größeren Probandengruppen erforderlich.

VI. Abkürzungen

AcCoA	Acetyl-Coenzym A
ADA	American Diabetes Association
Ala54Thr	fatty acid binding protein 2-Gen-Polymorphismus
ApoE	Apolipoprotein E
ATP	Adenosintriphosphat
ATP III	Adult Treatment Panel III
AVK	arterielle Verschlusskrankheit
BMI	body mass index (Körpergewicht (kg) / Körpergröße ² (m ²))
BZ	Blutzucker (= Plasma-Blutglukose)
Chol	Cholesterin
DAG	Diacylglycerol
DM2	Diabetes mellitus Typ 2
DNA	deoxyribonucleic acid
FABP	fatty acid binding protein
FA-CoA	Acyl-Coenzym A = Fettsäure-CoA
FFA	free fatty acids
FPG	fasting plasma glucose
G-6-P	Glukose-6-Phosphat
GDM	Gestationsdiabetes
GLUT	Glukose-Transporter
GT	Glukosetoleranz
HbA1c	Glykohämoglobin c
HDL	high density lipoprotein
HK	Hexokinase

HOMA-IR	homeostasis model assessment for insulin resistance
IDDM	insulin dependent diabetes mellitus
IDL	intermediate density lipoprotein
IFABP	intestinal fatty acid binding protein
IFG	impaired fasting glucose
IGT	impaired glucose tolerance
IR	Insulinresistenz
IRS	Insulinrezeptor-Substrat
i. S.	im Serum
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	low density lipoprotein
MetS	Metabolisches Syndrom
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat
NCEP	National Cholesterol Education Program
NGT	normale Glukosetoleranz
NIDDM	non insulin dependent diabetes mellitus
OGTT	oraler Glukosetoleranz-Test
PAI 1	Plasminogenaktivatorinhibitor 1
PCR	polymerase chain reaction
PDH	Pyruvat-Dehydrogenase
PFK	Phosphofruktokinase
PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase
PKC	Protein-Kinase C
T2DM	Typ-2-Diabetes mellitus
TG	Triglyceride

Thr54(-Allel)	Mutation im Codon 54 des FABP2-Gens, die zur Synthese von threoninhaltigem IFABP führt
Typ III-HLP	Hyperlipoproteinämie Typ III
VLDL	very low density lipoprotein
WHO	world health organisation
WHR	waist-to-hip ratio (Quotient aus Taillen- und Hüftumfang zur Ermittlung des Fettverteilungsmusters)

VII. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: PI3K-abhängige Insulin-Signalkette aus: Shepherd PR, Kahn BB, Epstein FH (ed; 1999) *Glucose transporters and insulin action: Implications for insulin resistance and diabetes mellitus*. *N Engl J Med* 341(4):250, 252

Abb. 2: Randle-Zyklus aus: Bays H, Mandarino L, DeFronzo RA (2004) *Mechanisms of endocrine disease: role of the adipocyte, FFA and ectopic fat in pathogenesis of Type 2 diabetes mellitus: peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutical approach*. *J Clin Endocrinol Metab* 89(2):465

Abb. 3: Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 aus: Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Häring HU (2000) *Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance*. *Endocr Rev* 21(6):586

Abb. 4: Hha-Spaltsequenz im FABP2-Gen aus: *New England BioLabs Catalog* 2005/2006:41

Abb. 5: Nukleotidsequenz des Thr54-Allels aus: Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC, Eads J, Paolisso G, Tataranni P (1995) *An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation and insulin resistance*. *J Clin Invest* 95(3):1282

VIII. Literaturverzeichnis

Abel ED, Shepherd PR, Kahn BB (1996) Glucose transporters and pathophysiologic states. In: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM (eds) Diabetes Mellitus, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp 530-43

Agren JJ, Vidgren HM, Valve RS et al. (2001) Postprandial responses of individual fatty acids in subjects homozygous for the threonine- or alanine-encoding allele in codon 54 of the intestinal fatty acid binding protein 2 gene. *Am Clin Nutr* 73(1):31-5

Alberti KG, Zimmet PZ (1998) For the WHO consultation: 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* 15:539-53

Alessi DR, James SR, Downes CP et al. (1997) Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase B alpha. *Curr Biol* 7:261-9

Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H et al. (1993) Amino acid polymorphism of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 342:828-32

Anderson EA, Hoffmann RP, Baion TW et al. (1991) Hyperinsulinemia produces both sympathetic activation and vasodilatation in normal humans. *J Clin Invest* 87:2246-52

Anderson RG (1998) The caveolae membrane system. *Annu Rev Biochem* 67:199-225

Austin MA, Edwards KL (1996) Small, dense low density lipoproteins, the insulin resistance syndrome and non-insulin dependent diabetes. *Curr Opin Lipidol* 7(3):167-71

Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL (1998) Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 81:7B-12B

Austin MA (2000) Triglyceride, small, dense low-density lipoprotein, and the atherogenic lipoprotein phenotype. *Curr Atheroscler Rep* 2(3):200-7

Bahl JJ, Matsuda M, DeFronzo RA et al. (1997) In vitro and in vivo suppression of gluconeogenesis by inhibition of pyruvate carboxylase. *Biochem Pharmacol* 53:67-74

Baier LJ, Sacchettini JC, Knowler WC et al. (1995) An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation and insulin resistance. *J Clin Invest* 95(3):1281-87

Bajaj M, Suraamornkul S, Piper P et al. (2004) Decreased adiponectin plasma concentrations are closely related to hepatic fat content and hepatic insulin resistance in pioglitazone-treated type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 89:200-6

Bays H, Mandarino L, DeFronzo RA (2004) Mechanisms of endocrine disease: role of the adipocyte, FFA and ectopic fat in pathogenesis of Type 2 diabetes mellitus: peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutical approach. *J Clin Endocrinol Metab* 89(2):463-78

Beisiegel U, Weber W, Ihrke G et al. (1989) The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature* 341:162-4

Bell GI, Polonsky KS (2001) Diabetes mellitus and genetically programmed defects in beta-cell function. *Nature* 414:788-91

Björntorp P (1994) Abdominal obesity and the metabolic syndrome (Review). *Ann Med* 24:465-68

Boden G, Chen X, Ruiz J et al. (1994) Mechanisms of fatty acid-induced inhibition of glucose uptake. *J Clin Invest* 93:2438-46

Boden G, Shulman GI (2002) Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. *Eur J Clin Invest* 32(Suppl 3):14-23

Bogardus C, Lillioja S, Howard B et al. (1984) Relationship between insulin secretion, insulin action and fasting plasma glucose concentration in non-diabetic and non-insulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Invest* 74:1238-46

Bonora E, Kiechl S, Willeit J et al. (1998) Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: The Bruneck Study. *Diabetes* 47:1643-49

Bonora E, Targher G, Alberiche M et al. (2000) Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23(1):57-71

Carey JO, Azevedo JL, Morris PG et al. (1995) Okadaic acid, vanadate and phenylarsine oxide stimulate 2-deoxyglucose transport in insulin-resistant human skeletal muscle. *Diabetes* 44:682-8

Chiasson JL, Josse RG, Gomis R et al. (2002) Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. *Lancet* 359:2072-7

Clement K, Vaisse C, Lahlou N et al. (1998) A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 392:398-401

Dallongeville J, Tiret L, Visvikis S et al. (1999) Effect of apo E phenotype on plasma postprandial triglyceride levels in young male adults with and without a familial history of myocardial infarction: the EARS II study. *Atherosclerosis* 145(2):381-8

DeFronzo RA, Ferrannini E, Hendler R et al. (1983) Regulation of splanchnic and peripheral glucose uptake by insulin and hyperglycemia. *Diabetes* 32:35-45

DeFronzo RA (1988) Lilly Lecture. The triumvirate: β cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37:667-87

DeFronzo RA, Ferrannini E (1991) Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease (Review). *Diabetes Care* 14:173-94

DeFronzo RA (1997) Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 5:177-269

DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E (1997) Pathogenesis of NIDDM. In: Alberti KGMM, DeFronzo RA, Zimmet P, Honor KH (eds) *International Textbook of Diabetes Mellitus*, 2nd edition, John Wiley & Sons, Chichester, UK, pp 635-712

de Knijff P, van den Maagdenberg AM, Frants RR et al. (1994) Genetic heterogeneity of apolipoprotein E and its influence on plasma lipid and lipoprotein levels. *Hum Mutat* 4:178-94

Doenecke D, Koolmann J, Fuchs G et al. (2005) *Karlsons Biochemie und Pathobiochemie*, 15. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, S. 536

Deetjen P, Speckmann EJ (1994) *Physiologie*, 2. Auflage, Urban & Schwarzenberg, München, S. 551

Dresner A, Laurent D, Marucci M et al. (1999) Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1 associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 103:253-9

Edelstein SL, Knowler WC, Bain RP et al. (1997) Predictors of progression from impaired glucose tolerance to NIDDM: an analysis of six prospective studies. *Diabetes* 46:701-10

Eggstein M, Luft D (1994) *Diabetes mellitus*. In: Gross R, Schölmerich P, Gerok W (Hrsg) *Die innere Medizin*, 4. Aufl., Schattauer, Stuttgart, New York, S. 890f

Ellis BA, Poynten A, Lowy AJ et al. (2000) Long-chain acyl-CoA esters as indicators of lipid metabolism and insulin sensitivity in rat and human muscle. *Am J Physiol* 279:E554-60

Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (1997) Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 20:1183-97

Faergeman NJ, Knudsen J (1997) Role of long-chain fatty acyl-CoA esters in the regulation of metabolism and in cell signaling. *Biochem J* 323:1-12

Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G et al. (1999) Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptine deficiency. *N Engl J Med* 341:879-84

Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD et al. (1991) Hyperinsulinemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 34:416-22

Ferrannini E (1998) Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: problems and prospects. *Endocr Rev* 19:477-490

Fontbonne A, Eschwege E, Cambien F et al. (1989) Hypertriglyceridemia as a risk factor of coronary heart disease mortality in subjects with impaired glucose tolerance or diabetes. *Diabetologia* 32:300-304

Ford ES, Giles WH, Dietz WH (2002) Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 287:356-59

Ford ES, Giles WH (2003) A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions. *Diabetes Care* 26(3):575-81

Foster DF (1999) Diabetes Mellitus. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ et al. (Hrsg) *Harrisons Innere Medizin*, Band 2, dt. Übersetzung der 14. US-amerikanischen Aufl., McGraw-Hill Libri, Milano, Italia, S. 2423

Frühbeck G, Gomez-Ambrosi J, Muruzabal FJ et al. (2001) The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol* 280:E827-47

Galluzzi JR, Cupples LA, Meigs JB et al. (2001) Association of the Ala54-Thr polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein with 2-h postchallenge insulin levels in the Framingham Offspring Study. *Diabetes Care* 24(7):1161-6

Gabir MM, Hanson RL, Dabelea D et al. (2000) The 1997 American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for hyperglycemia in the diagnosis and prediction of diabetes. *Diabetes Care* 23(8):1108-12

Ganong WF, Lange J, Lange DeL (1999) *Review of Medical Physiology*, 19th edition, Appleton & Lange, Stamford, Connecticut, p 320

Gerich JE (1998) The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity. *Endocr Rev* 19:491-503

Gjessing HJ, Matzen LE, Faber OK et al. (1989) Sensitivity and reproducibility of urinary C-peptide as estimate of islet β -cell function in insulin-treated diabetes. *Diab Med* 4:329-33

Golay A, Felber JP, Jequier E et al. (1988) Metabolic basis of obesity and noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab Rev* 4:727-747

Golay A, Chen N, Chen YD et al. (1990) Effect of central obesity on regulation of carbohydrate metabolism in obese patients with varying degrees of glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 71:1299-1304

- Gorden E (1960) Non-esterified fatty acids in blood of obese and lean subjects. *Am J Clin Nutr* 8:740-747
- Gregg RE, Zech LA, Schaefer EJ et al. (1984) Apolipoprotein E metabolism in normolipoproteinemic human subjects. *J Lipid Res* 25:1167-76
- Groop LC, Bonadonna RC, Del Prato S et al. (1989) Effect of insulin on oxidative and non-oxidative pathways of glucose and FFA metabolism in NIDDM. Evidence for multiple sites of insulin resistance. *J Clin Invest* 84:205-13
- Groop LC, Ekstrand A, Forsblom C et al. (1993) Insulin resistance, hypertension and microalbuminuria in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 36:642-47
- Grundey SM (1989) Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 81(4A):18B-25B
- Grundey SM, Brewer HB, Cleeman JI et al. (2004) Report of the National Heart, Lung and Blood Institute/American Heart Association Conference on scientific issues related to definition: definition of metabolic syndrome. *Circulation* 109:433-38
- Haffner SM, Miettinen H, Stern MP (1997) The homeostasis model in the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care* 20(7):1087-97
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M et al. (1995) Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269:543-6
- Hanefeld M, Leonhardt W (1981) Das metabolische Syndrom. *Dt. Gesundh.-Wesen* 36:545-51
- Hansen BC (1999) The metabolic syndrome X. *Annals New York Academy of Sciences* 1-24
- Hansen BC, Jen KL, Schwartz J (1988) Changes in insulin responses and binding in adipocytes from monkeys with obesity progressing to diabetes. *Int J Obes* 12:391-401
- Harris MI, Eastman RC, Cowie CC et al. (1997) Comparison of diabetes diagnostic categories in the U. S. population according to 1997 American Diabetes Association and 1980-1985 WHO diagnostic criteria. *Diabetes Care* 20:1859-62
- Hart LM, Stolk RP, Heine RJ et al. (1996) Association of the insulin-receptor variant Met-985 with hyperglycemia and non-insulin-dependent diabetes mellitus in the Netherlands: a population-based study. *Am J Hum Genet* 59(5):1119-25
- Hartmann HB, Xu X, Tyler KX et al. (2002) Mechanisms regulating adipocyte expression of resistin. *J Biol Chem* 277:19754-61

Havel RJ, Kane JP (1973) Primary dysbetalipoproteinemia: predominance of a specific apoprotein species in triglyceride-rich lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 70:2015-9

Havel RJ (1982) Familial dysbetalipoproteinemia. New aspects of pathogenesis and diagnosis. *Med Clin North Am* 66:441-54

Hayakawa T, Nagai Y, Nohara E et al. (1999) Variation of the fatty acid binding protein 2 gene is not associated with obesity and insulin resistance in Japanese subjects. *Metabolism* 48(5):655-7

Hedblad B, Nilsson P, Janzon L et al. (2000) Relation between insulin resistance and carotid intima-media thickness in non-diabetic subjects. *Diabet Med* 4:299-307

Hegele RA, Connelly PW, Hanley AJG et al. (1997) Common genomic variants associated with variation in plasma lipoproteins in young aboriginal Canadians. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:1060

Hegele RA, Harris SB, Hanley AJG et al. (1996). Genetic variation of intestinal fatty acid binding protein associated with variation in body mass in aboriginal Canadians. *J Clin Endocr Metab* 81:4334

Himsworth HP (1936) Diabetes mellitus: its differentiation into insulin sensitive and insulin insensitive types. *Lancet* 1:127-30

Hixson JE, Vernier DT (1990) Restriktion isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 31:545-8

Holman GD, Kasuga M (1997) From receptor to transporter: insulin signaling to glucose transport. *Diabetologia* 40:991-1003

Humphreys P, McCarthy M, Tuomilehto J et al. (1994) Chromosome 4q locus associated with insulin resistance in pima indians. Studies in three european NIDDM populations. *Diabetes* 43:800-4

Isakoff SJ, Taha C, Rose E et al. (1995) The inability of phosphatidylinositol 3-kinase activation to stimulate GLUT4 translocation indicates additional signaling pathways are required for insulin-stimulated glucose uptake. *Proc Natl Acad Sci USA* 92:10247-51

Isomaa B, Almgren P, Tuomi T et al. (2001) Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* 24(4):683-9

Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F et al. (2002) Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C and I κ B- α . *Diabetes* 51:2005-11

Ito K, Nakatani K, Fujii M et al. (1999) Codon 54 polymorphism of the fatty acid binding protein gene and insulin resistance in the japanese population. *Diab Med* 16: 119-24

Jacobs S, Machann J, Rett K et al. (1999) Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean non-diabetic offspring of type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 48:1113-9

Janka HU (1996) Zur Epidemiologie des metabolischen Syndroms. *Internist* 36:681-86

Kahn BB (1992) Facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. *J Clin Invest* 89:1367-74

Kahn SE (2001) The importance of β -cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4047-58

Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL et al. (1997) Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature* 389:374-7

Kandror KV, Pilch PF (1996) Compartmentalization of protein traffic in insulin-sensitive cells. *Am J Physiol* 271:E1-14

Kaplan NM (1989) The deadly quartet: upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension. *Arch Intern Med* 149:1514-20

Kashyap S, Belfort R, Pratipanawatr T et al. (2002) Chronic elevation in plasma free fatty acids impairs insulin secretion in non-diabetic offspring with a strong family history of T2DM. *Diabetes* 51(Suppl 2):A12

Kellerer M, Häring HU (1999) Pathogenese des Typ-2-Diabetes. In: Mehnert H, Standl E, Usadel KH (Hrsg) *Diabetologie in Klinik und Praxis*, 4. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart, S. 58

Kelley DE, Mokan M, Simoneau JA et al. (1993) Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 92:91-8

Kelley DE, Mandarino LJ (2000) Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance. *Diabetes* 49:677-83

King H, Aubert RE, Herman WH (1998) Global burden of diabetes, 1995 - 2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 21(9):1414-31

Krssak M, Falk Petersen K, Dresner A et al. (1999) Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans. *Diabetologia* 42:113-6

Kruszynska YT, Worrall DS, Ofrecio J et al. (2002) Fatty acid-induced insulin resistance: decreased muscle PI3K activation but unchanged Akt phosphorylation. *J Clin Endocrinol Metab* 87:226-34

Kylin E (1923) Studien über das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämie-Syndrom. *Zentralblatt für Innere Medizin* 44:105-27

Laakso M, Sarlund H, Mykkänen L (1990) Insulin resistance is associated with lipid and lipoprotein abnormalities in subjects with varying degrees of glucose tolerance. *Arteriosclerosis* 10(2):223-31

Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka T et al. (2002) The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease Mortality in middle-aged men. *JAMA* 288(21):2709-16

Lamarche B, Despres J-P, Pouliot M-C et al. (1993) Metabolic heterogeneity associated with high plasma triglyceride or low cholesterol levels in men. *Arterioscler Thromb* 13:33-40

Larkin M (2001) Metabolic syndrome targeted in new US cholesterol guidelines. *Lancet* 357:1594

Lauro D, Kido Y, Castle AL et al. (1998) Impaired glucose tolerance in mice with a targeted impairment of insulin action in muscle and adipose tissue. *Nat Genet* 20:294-98

Lazar MA (2002) Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 13:18-23

Lee Y, Hirose H, Ohneda M et al. (1994) Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:10878-82

Li WH, Tanimura M, Luo CC et al. (1988) The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure-function relationships and the evolution. *J Lip Res* 29:245-71

Lillioja S, Nyomba BL, Saad MF et al. (1991) Exaggerated early insulin release and insulin resistance in a diabetes-prone population: a metabolic comparison of Pima indians and Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 73:866-76

Lillioja S, Mott DM, Spraul M et al. (1993) Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus: prospective studies of pima indians. *N Engl J Med* 329:1988-92

Lowe JB, Sacchettini JC, Laposata M (1987) Expression of rat IFABP in *E. coli*. *J Biol Chem* 262:5931-37

Mann WA (1998) Die Bedeutung des Apolipoprotein E im Metabolismus triglyzeridreicher Lipoproteine bei Hyperlipoproteinämie und Diabetes mellitus. Habilitationsschrift, Universität Hamburg

Martin BC, Warram JH, Krolewski AS et al. (1992) Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 340:925-29

Massillon D, Barzilai N, Hawkins M et al. (1997) Induction of hepatic glucose-6-phosphatase gene expression by lipid infusion. *Diabetes* 46:153:157

Mathews DR, Hosker JP, Rudenski AS et al. (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28:412-19

Matsuda M, DeFronzo RA, Consoli A et al. (2002) Dose response curve relating plasma glucagon to hepatic glucose production and glucose disposal in type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 51:1111-9

Mitchell BD, Kammerer CM, O'Connell P et al. (1995) Evidence for linkage of postchallenge insulin levels with intestinal fatty acid binding protein (FABP2) in Mexican-Americans. *Diabetes* 44:1046-53

Miller SA, Dykes DD, Polesky HF (1988) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16:1215

Modan M, Halkin H, Almog S et al. (1985) Hyperinsulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest* 75:807-17

Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA et al. (2000) Diabetes trends in the United States, 1990 - 1998. *Diabetes Care* 23:1278-1283

Montague CT, Prins JB, Sanders L et al. (1998) Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. *Diabetes* 47:1384-91

Montague CT, O'Rahilly S (2000) The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes* 49:883-88

Mostaza JM, Vega GL, Snell P et al. (1998) Abnormal metabolism of free fatty acids in hypertriglyceridemic man: apparent insulin resistance of adipose tissue. *J Intern Med* 243(4):265-74

Mykkänen L, Zaccaro DJ, Wagenknecht LE et al. (1998) Microalbuminuria is associated with insulin resistance in nondiabetic subjects: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 47:793-800

National Cholesterol Education Program (NCEP 2002) Third report. Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 106:3143-421

Ohara T, Sussman KE, Draznin B (1991) Effect of diabetes on cytosolic free Ca^{2+} and Na^{+} - K^{+} -ATPase in rat aorta. *Diabetes* 40(11):1560-63

Pessin JE, Saltiel AR (2000) Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest* 106(2):165-9

Pihlajamäki J, Rissanen J, Heikkinen S et al. (1997) Codon 54 polymorphism of the human intestinal fatty acid binding protein 2 gene is associated with dyslipidemias but not with insulin resistance in patients with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17(6):1039-1043

- Pratley RE, Baier L, Pan DA et al. (2000) Effects of an Ala54Thr polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein on responses to dietary fat in humans. *J Lipid Res* 41:2002-8
- Rall SC, Mahley RW (1992) The role of apolipoprotein E genetic variants in lipoprotein disorders. *J Intern Med* 231(6):653-9
- Randle PJ, Garland PB, Hales CN et al. (1963) The glucose fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1:785-9
- Randle PJ, Priestman DA, Mistry S et al. (1994) Mechanisms modifying glucose oxidation in diabetes mellitus. *Diabetologia* 37:S155-S161
- Rantala AO, Kauma H, Lilja M et al. (1999) Prevalence of the metabolic syndrome in drug-treated hypertensive patients and control subjects. *J Intern Med* 245:163-74
- Rea S, James DE (1997) Moving GLUT4: the biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. *Diabetes* 46:1667-77
- Reaven GM (1988) Banting Lecture: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607
- Reaven GM, Hollenbeck CB, Jeng C-Y et al. (1988) Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate and insulin for 24 hours in patients with NIDDM. *Diabetes* 37:1020-4
- Reaven GM, Hollenbeck CB, Chen Y-DI (1989) Relationship between glucose tolerance, insulin secretion and insulin action in non-obese individuals with varying degrees of glucose tolerance. *Diabetologia* 32:52-5
- Reaven GM (1996) Insulin resistance and its consequences: non-insulin dependent diabetes mellitus and coronary artery disease. In: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM (eds) *Diabetes Mellitus*, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, pp 509-19
- Reaven GM (2002) Clinician update: metabolic syndrome: pathophysiology and implications for management of cardiovascular disease. *Circulation* 106:286-88
- Rett K, Wicklmayr E, Standl E (1994) Das metabolische Syndrom. Ursachen, Diagnostik und Therapie. *Wien Klin Wochenschr* 106:750-7
- Roden M, Krssak M, Stingl H et al. (1999) Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by FFA in humans. *Diabetes* 48:358-64
- Roden M, Price TB, Perseghin G et al. (1996) Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 97:2859-65
- Saad MF, Pettitt DJ, Mott DM et al. (1989) Sequential changes in serum insulin concentration during development of non-insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1:1356-69

- Saad MF, Knowler WC, Pettitt DJ et al. (1991) A two-step model for development of non-insulin-dependent diabetes. *Am J Med* 90(2):229-35
- Saiki RK, Chang CA, Kazazian HH et al. (1988) Diagnosis of sickle cell anemia with enzymatically amplified DNA. *New Engl J Med* 319:537-41
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M et al. (1995) A novel serum protein similar to C1q is produced exclusively by adipocytes. *J Biol Chem* 270:26746-9
- Schleicher CH, Cordoba OL, Santome JA et al. (1995) Molecular evolution of the multigene family of intracellular lipid-binding proteins. *Biochem Mol Biol Int* 36:1117
- Shelburne FA, Quarfordt SH (1974) A new apoprotein of human plasma very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 249:1428-33
- Shepherd PR, Withers DJ, Siddle K (1998) Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signaling. *Biochem J* 333:471-90
- Shepherd PR, Kahn BB, Epstein FH (ed; 1999) Glucose transporters and insulin action: implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 341(4):248-257
- Sims EAH, Danforth E, Horton ES et al. (1973) Endocrine and metabolic effects of experimental obesity in man. *Rec Prog Horm Res* 29:457-96
- Smith SR, Bai F, Charbonneau C et al. (2003) A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes* 52:1611-18
- Sposito AC, Ventura LI, Vinagre CG et al. (2004) Delayed intravascular catabolism of chylomicron-like emulsions is an independent predictor of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 176(2):397-403
- Standaert ML, Galloway L, Karnam P et al. (1997) Protein kinase C-zeta as a downstream effector of phosphatidylinositol 3-kinase during insulin stimulation in rat adipocytes: potential role in glucose transport. *J Biol Chem* 272:30075-82
- Standl E (1995) Hyperinsulinemia and atherosclerosis. *Clin Invest Med* 18:261-66
- Standl E (1996) Metabolisches Syndrom und tödliches Quartett. *Internist* 37:698-704
- Starke AAR (1996) Physiologie des Kohlehydratstoffwechsels. In: Berger M (Hrsg) *Diabetes Mellitus*, Urban & Schwarzenberg, München, S. 6f
- Stein DT, Dobbins R, Szczepaniak L et al. (1997) Skeletal muscle triglyceride stores are increased in insulin resistance (Abstract). *Diabetes* 46(1):23A
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S et al. (2001) The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409:307-12

- Stern SE, Williams K, Ferrannini E et al. (2005) Identification of individuals with insulin resistance using routine clinical measurements. *Diabetes* 54:333-39
- Stone NJ (1994) Secondary causes of hyperlipidemia. *Med Clin North Am* 78:117-41
- Stout R (1975) Effect of insulin on the proliferation of cultured primate arterial smooth muscle cells. *Circ Res* 36:319-327
- Stryer L (1991) *Biochemie*. Deutsche Übersetzung der 1988 erschienenen, 3. amerikanischen Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York S. 664f, 1030f
- Tahvanainen E, Molin M, Vainio S et al. (2000) Intestinal fatty acid binding protein polymorphism at codon 54 is not associated with postprandial responses to fat and glucose tolerance tests in healthy young Europeans. *Atherosclerosis* 152:317-25
- Tanti J, Gremeaux T, Grillo S et al. (1997) Overexpression of a constitutively active form of phosphatidylinositol 3-kinase is sufficient to promote GLUT-4 translocation in adipocytes. *J Biol Chem* 271:25227-32
- Tippett PS, Neet KE (1982) An allosteric model for the inhibition of glucokinase by long chain acyl coenzyme A. *J Biol Chem* 257:14846-52
- Thompson AL, Cooney GJ (2000) Acyl-CoA inhibition of hexokinase in rat and human skeletal muscle is a potential mechanism of lipid-induced insulin resistance. *Diabetes* 49:1761-4
- Tripathy D, Carlsson M, Almgren P et al. (2000) Insulin secretion and insulin sensitivity in relation to glucose tolerance. Lessons from the Botnia Study. *Diabetes* 49:975-80
- Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG et al. (2001) Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med* 344:1343-50
- Unger RH (1997) How obesity causes diabetes in Zucker diabetic fatty rats. *Trends Endocrinol Metab* 7:276-82
- Unger RH (2002) Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med* 53:319-36
- Utermann G, Hees M, Steinmetz A (1977) Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nature* 269:604-7
- Utermann G, Steinmetz A, Weber W (1982) Genetic control of apolipoprotein E polymorphism: comparison of one- and two-dimensional techniques of isoprotein analysis. *Hum Genet* 60:344-51
- Vague J (1956) The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes and atherosclerosis. *Am J Clin Nutr* 4:20-34

Wang H, Chu WS, Hemphill C et al. (2002) Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 87:2520-4

Vassileva G, Huwyler L, Poirier K et al. (2000) The intestinal fatty acid binding protein is not essential for dietary fat absorption in mice. *FASEB J* 14: 2040-6

Watson RT, Shigematsu S, Chiang SH et al. (2001) Lipid raft microdomain compartmentalization of TC10 is required for insulin signaling and GLUT4 translocation. *J Cell Biol* 154:829-40

Weisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW (1982) Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. *J Biol Chem* 257:2518-21

Weyer C, Tataranni PA, Bogardus C et al. (2000) Insulin resistance and insulin secretory dysfunction are independent predictors of worsening of glucose tolerance during each stage of type 2 diabetes development. *Diabetes Care* 24:89-94

Weyer C, Funahashi T, Tanaka S et al. (2001) Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1930-5

Williams GH (1998) Hypertensive vascular disease. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ et al. (eds) *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th edition, McGraw-Hill, New York, St. Louis, San Francisco, p 1382

Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D et al. (1998) Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 97:1837-47

Wititsuwannakul D, Kim K (1977) Mechanism of palmitoyl coenzyme A inhibition of liver glycogen synthase. *J Biol Chem* 252:7812-17

World Health Organization (1985) *Diabetes mellitus: report of a WHO study group*. Geneva, World Health Org. Tech. Rep. Ser. No. 727

World Health Organization (1999) *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Geneva, World Health Org.

Wright EM, Turk E, Zabel B et al. (1991) Molecular genetics of intestinal glucose transport. *J Clin Invest* 88:1435-40

Yamada K, Yuan X, Ishiyama S et al. (1997) Association between Ala54Thr substitution of the fatty acid-binding protein 2 gene with insulin resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia* 40:706-10

Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. (2001) The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 7:941-46

Yudkin JS (1999) Abnormalities of coagulation and fibrinolysis in insulin resistance. Evidence for a common antecedent? (Review). *Diabetes Care* 22 (Suppl. 3):C25-C30

Zannis VI, Breslow JL (1981) Human very low density lipoprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and posttranslational modification. *Biochem* 20:1033-41

Zierath JR, He L, Guma A et al. (1996) Insulin action on glucose transport and plasma membrane GLUT4 content in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Diabetologia* 39:1180-9

Zimmet P, Alberti KG, Shaw J (2001) Global and social implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414:782-7

IX. Danksagung

Mein Dank gilt allen, die die vorliegende Arbeit und mich unterstützt haben:

Den Patientinnen und Patienten, die an den klinischen Untersuchungen teilgenommen haben.

Den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Biochemie und Molekularbiologie II, insbesondere C. Runge, N. Meyer, S. Plön, H. Reschke, D. Wendt und Dr. D. Evans für die freundliche und geduldige Zusammenarbeit.

Den Schwestern und Kollegen aus der medizinischen Kern- und Poliklinik des UKE, die die klinischen und retrospektiven Studien möglich gemacht haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt Prof. Dr. Dr. Ulrike Beisiegel und PD Dr. W. Alexander Mann und für die Überlassung des Themas, die vorbildliche Betreuung sowie die Bereitstellung der technischen und finanziellen Mittel.

Meinem klinischen Lehrer Prof. Dr. Georg Hoppe-Seyler, ohne den ich schon während des AiP kein Arzt mehr hätte sein wollen.

Meinen Familien Hußmann und Kidder, meiner Freundin Kristina Pollok sowie meinen Freunden Dr. Bernd Katz, Dr. Ulrike Köller und Dr. Karsten Wursthorn für die hartnäckige Motivation und Vorbildfunktion.

X. Lebenslauf

Name: Daniel Winslow Kidder
 Wohnort: Alsterdorfer Str. 2
 22299 Hamburg
 Telefon: 040-68913925 / 0179-5106583
 E-Mail: dkidd@gmx.de
 Geburtstag: 15.08.1971
 Geburtsort: Bern
 Nationalität: Schweizer
 Familienstand: vergeben

1978 - 1991 Grundschule und Gymnasium Nittenau/Opf.
 1992 - 1999 Studium der Humanmedizin Universität Hamburg
 1994 Physikum
 1996 1. Staatsexamen
 1998 2. Staatsexamen
 1999 3. Staatsexamen
 1999 Auslandsaufenthalt: Department of General Surgery, Port of
 Spain General Hospital, Trinidad and Tobago, West Indies
 1999 - 2000 Dissertation
 2000 - 2002 Arzt im Praktikum
 II. Medizinische Abteilung Allgemeines Krankenhaus Harburg
 LA Prof. Dr. G. Hoppe-Seyler
 2002 - 2003 Bereitschaftsdienstarzt II. Medizinische Abteilung Allgemeines
 Krankenhaus Harburg LA PD Dr. Christl
 2002 - 2005 Weiterbildungsassistent Nephrologische Praxis und
 Dialysezentrum Harburg (Prof. Bode, Dr. Wahls und Partner)
 2005 - 2007 Assistenzarzt
 Medizinische Abteilung Wilhelmsburger Krankenhaus
 Groß-Sand LA Prof. Dr. R. Scola
 2007 - Assistenzarzt
 Medizinische Abteilung Schön Klinikum Eilbek
 LA Prof. Dr. H. Heidemann

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 anderen Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.
