

Aus dem Zentrum der Inneren Medizin der
Johann Wolfgang Goethe- Universität Frankfurt am Main
Medizinische Klinik I
(Direktor: Prof. Dr. med. K.-H. Usadel)

**Einfluss der α -Liponsäure
auf die Insulinsensitivität und Glucoseeffektivität
bei Patienten mit Diabetes mellitus 2
eine Untersuchung mit der Minimal-Modeling-Technik**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Johann Wolfgang Goethe- Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Afsaneh Assadkhani
Aus Avaj / Iran

Frankfurt am Main
2003

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Refrent. PD. Dr. T. Konrad

Koreferent: Prof. Dr. S. Hader

Tag der mündlichen Prüfung: 15.10.2003

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	5
1. Einleitung	6
2. Material und Methoden	8
2.1. Studienplan	8
2.1.1. Studienaufbau	8
2.1.2. Patientenkollektiv	8
2.2. α-Liponsäure	9
2.3. Pyruvat-Dehydrogenasekomplex	10
2.4. Modeling Technik zur Bestimmung der Insulinsensitivität(SI) und Glucoseeffektivität (SG)	12
2.4.1. FSIGTT	12
2.5. Minimal Model	13
2.6. Parameter des Glucosestoffwechsels	16
2.6.1. Glucose in Serum	16

2.6.2. Pyruvat	17
2.6.3. Lactat und β-Hydroxybutyrat	18
2.6.4. Insulin	20
2.6.5. C-Peptid	21
2.7. Statistische Methoden	21
3. Ergebnisse	23
3.1. Kontrollkollektiv	23
3.1.1. SI und SG Werte bei der Kontrollgruppe	25
3.1.3. Lactat und Pyruvat unter intravenöser Glucosebelastung	25
3.2. Patienten mit Diabetes mellitus 2	29
3.2.1. SI, SG, Glucose-, Lactat- und Pyruvatkonzentrationen während Glucosebelastung vor der Therapie	30
3.2.2. SI, SG, Glucose-, Lactat- und Pyruvatkonzentrationen während Glucosebelastung unter α-Liponsäuretherapie	31
4. Diskussion	38
4.1. Insulinresistenz und intrazelluläre Glucoseverwertungsstörung	38
4.1.1. Glucoseverwertungsstörung und mitochondriale Dysfunktion	42
4.1.2. Insulinsensitivitäts- und Glucoseeffektivität	44
4.2. Einfluß von α-Liponsäure auf die Insulinsensitivität und Glucose- effektivität im Nüchternzustand und unter Glucosebelastung	45
4.3. Einfluß der α-Liponsäure auf Lactat- und Pyruvatkonzentrationen	46
5. Zusammenfassung	49
6. Abstract	51
7. Literaturverzeichnis	53
Danksagung	66

Lebenslauf	67
Ehrenwörtliche Erklärung	69

Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve
BMI	Body-Mass-Index (Körpermassen-Index)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DM 2	Diabetes mellitus 2
FFA	freie Fettsäuren
FSIGTT	Frequently Sampled Intravenous Glucosetoleranztest
i. v.	intravenös
IVGTT	intravenöser Glucosebelastungstest
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
NAD	Nicotinsäureamidadenindinucleotid
NADH	reduziertes Nicotinsäureamidadeninnucleotid
OGTT	oraler Glucosetoleranztest
PDH	Pyruvatdehydrogenase
RIA	Radioimmunoassay
SAAM	Simulation of analysis and modeling
SI	Insulinsensitivität
SG	Glucoseeffektivität

SEM	Standard error of the mean
GLUT	Glucosetransporter

1. Einleitung

Der Diabetes mellitus 2 wird durch eine Störung der insulinvermittelten Glucoseaufnahme (Insulinsensitivität), (De Fronzo et al. 1992) und der Störung der β -Zellfunktion verursacht. Neben dieser Störung der Insulinsensitivität (SI) und β -Zellfunktion ist auch die Glucoseeffektivität (SG) bei Patienten mit einem Diabetes mellitus 2 verändert (Basu et al. 1997; Taniguchi et al. 1992). Die sogenannte Glucoseeffektivität beschreibt den Masseneffekt der Glucose, d.h. die Glucose ist allein in der Lage, sowohl die eigene Aufnahme in die Peripherie (Muskulatur) zu steuern, als auch den hepatischen Glucoseausstrom bei basalem Insulinspiegel zu blockieren.

Hinter den veränderten Mechanismen der Insulinsensitivität und Glucoseeffektivität steht die Störung der Glucoseaufnahme (Bonnadonna et al.1964; Kelley et al. 1996; Roden et al. 1996), die Translokation der Glucosetransporter zur Membran nach einer Glucosebelastung (Galante P. et al. 1995) und Veränderungen der anaeroben und aeroben Glucoseoxidation (Mandarino et al. 1990; Thorburn et al. 1990; Meyer et al. 1980).

Bei adipösen Patienten mit einem Diabetes mellitus 2 sind die Lactat- und Pyruvat-Interkonversionen im Muskel deutlich erhöht (Avogaro et al. 1996). Diese Veränderung der aeroben Glucoseoxidation scheint mit einer veränderten Pyruvat- dehydrogenase-Aktivität einher zu gehen. Die Pyruvatdehydrogenase (PDH) ist das Schrittmacherezym der aeroben Glucoseoxidation (Randle 1985).

Untersuchungen an Patienten mit Diabetes mellitus 2 haben gezeigt, dass ein Defekt in der aeroben Glucoseoxidation vorhanden ist, der nicht durch Erhöhung der

Insulinkonzentration, Gewichtsreduktion oder durch eine veränderte Fettoxidation behoben werden kann (Henry et al. 1991; Thorburn et al. 1990). Die PDH scheint in ihrer Funktion durch einen anderen Defekt im Bereich der mitochondrialen Ebene gestört zu sein (Henry et al. 1991).

Experimentelle Arbeiten mit α -Liponsäure, einem Kofaktor der PDH (Randle et al. 1985) haben gezeigt, dass diese Substanz in der Lage ist, nicht nur als freier Sauerstoffradikalfänger (Nagamatsu et al. 1995) Hyperglykämie bedingte Veränderungen an den Gefäßen und Nerven zu verhindern, sondern auch den Glucosestoffwechsel günstig zu beeinflussen (Klip et al. 1994; Haugaad et al. 1970).

Die Gabe von α -Liponsäure führte bei diabetischen Ratten zu einer Verminderung der Lactat- und Pyruvat-Konzentration, die wahrscheinlich durch eine Stimulation der PDH-Aktivität verursacht wird (Wagh et al. 1987). Untersuchung am Menschen hinsichtlich dieser Glucosemetabolite gibt es allerdings nicht. α -Liponsäure zeigt auch einen positiven Effekt auf Prävention von Hypertonie, Insulinresistenz und oxidativen Stress bei diabetischen Ratten (El Midaoui et al. 2002). Andere Untersuchungen konnten belegen, dass α -Liponsäure bei Patienten mit Diabetes mellitus 2 die Insulinsensitivität verbessert (Basu et al. 1997; Best et al. 1996).

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der oralen Therapie mit α -Liponsäure bei normal- und übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2 auf die Lactat-, Pyruvat-, Glucose- und Insulin-Konzentration untersucht. Hierbei wurde vor und vier Wochen nach der Therapie mit α -Liponsäure (2x 600 mg/d Thioctacid) eine intravenöse Glucosebelastung durchgeführt. Parallel dazu wurde eine Kontrollgruppe mit normal- und übergewichtigen Kontrollpersonen untersucht. Die ermittelten Glucose- und Insulinkonzentrationen wurden mit Hilfe der Minimal-Modeling-Technik analysiert. Diese computerisierte Auswertung erlaubt die Bestimmung der Glucoseeffektivität und Insulinsensitivität bei nicht-diabetischen und diabetischen Patienten. Weiter wurde in dieser Studie untersucht, inwieweit die orale Therapie mit α -Liponsäure die SI und die SG verbessert und den Pyruvat- und Lactat-Metabolismus günstig beeinflusst.

2. Material und Methoden

2.1. Studienplan

2.1.1. Studienaufbau

Im Rahmen einer klinischen Verlaufsstudie wurden in der Zeit von November 1994 bis Februar 1996 jeweils 10 normal- und übergewichtige männliche Patienten mit einem Diabetes mellitus 2 untersucht. Diese waren bis zum Zeitpunkt der Untersuchung in keiner Behandlung wegen einer peripheren diabetischen Polyneuropathie.

Die Patienten erhielten eine Therapie mit α -Liponsäure (Thioctacid® der Firma Viatrix AG, Frankfurt/Main) 2 x 600 mg per os pro Tag). Es wurden vor und vier Wochen nach Einleitung der α -Liponsäuretherapie ein 4-stündiger „Frequently Sampled Intravenous Glucose Tolerance Test (FSIGTT) durchgeführt. Die gemessenen Parameter wurden auch bei je 10 normal- und übergewichtigen Stoffwechselgesunden (Kontrollgruppe) nach einem Glucose-Belastungstest untersucht und mit denen der Diabetiker verglichen.

2.1.2. Patientenkollektiv

In der vorliegenden Studie wurden jeweils 10 normal- und übergewichtige Patienten mit Diabetes mellitus 2 untersucht.

Die Ausschlusskriterien für die Teilnahme an der Studie waren eine Herz-, bzw. Niereninsuffizienz, Lebererkrankungen, ein Alter > 65 Jahre, sowie konsumierende Erkrankungen.

Voraussetzung für eine Teilnahme an der Untersuchung war das Einverständnis des Patienten.

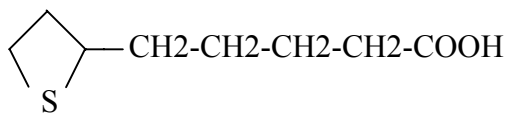
2.2. α -Liponsäure

Die α -Liponsäure (1,2-Dithiolan-3-Pentansäure) ist ein natürlich vorkommendes Thiol, das als Coenzym der Pyruvatdehydrogenase bekannt ist und chemisch dem Glutathion nahesteht. Sie leitet sich chemisch von der n-Oktansäure ab (Abb. 1).

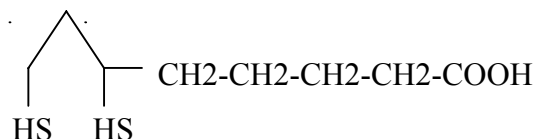
An den Positionen C6 und C8 werden die Wasserstoffatome durch SH-Gruppen ersetzt. Die Verbindung wird als 1,2 Dithiolan-3-pentansäure bezeichnet. Wegen ihrer Ähnlichkeit mit einer Fettsäure nannte man sie α -Liponsäure bzw. Thiooctsäure (von „Thio“ = Schwefelverbindung und „-octsäure“ = Säure mit achtgliedriger Kohlenstoffkette) (Reed et al.1995; Bullock et al.1952).

α -Liponsäure kommt überwiegend in der oxidierten Form vor. Die beiden Schwefelatome sind hierbei über eine Disulfidbrücke miteinander verbunden, wodurch ein fünfgliedriger Dithiolanring entsteht (Hayden, 1992). Nach Reduktion öffnet sich der Ring und es bildet sich die Dihydroliponsäure oder 6,8-Dithiooctansäure.

Abbildung 1: zeigt die Strukturformel der α -Liponsäure und die reduzierte Form, auch Dihydroliponsäure genannt.



Strukturformel der
Dihydroliponsäure



Strukturformel der α -Liponsäure

2.3. Pyruvat-Dehydrogenasekomplex

Der Pyruvat-Dehydrogenasekomplex (PDH) ist ein mitochondrialer Multi-Enzymkomplex, der sich aus der Pyruvatdehydrogenase, der Acetyltransferase und der Dihydropoyl-Dehydrogenase zusammensetzt. Der PDH-Komplex katalysiert die Oxidation von Pyruvat in Acetyl-CoA, und ist deshalb ein Schlüsselenzym zwischen dem Kohlenhydrat- und dem Fettstoffwechsel.

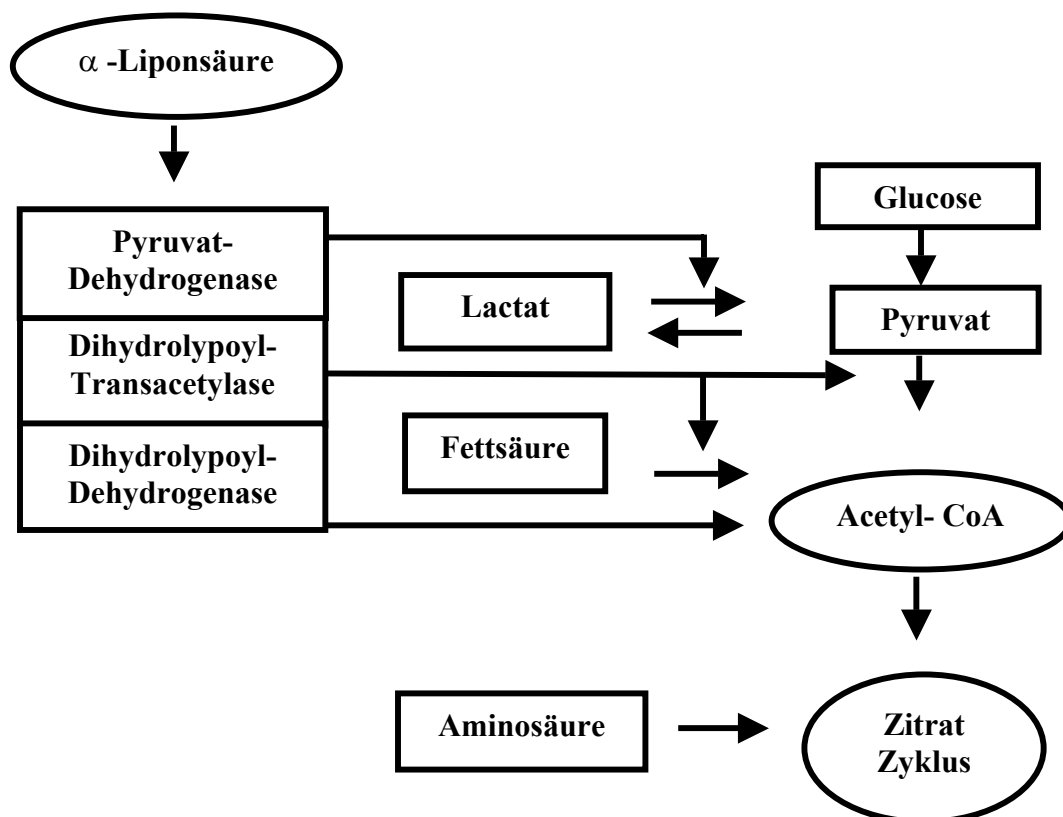


Abbildung 2: Pyruvat-Dehydrogenase Komplex. (Linnemann et al. 1999 Biochemie für Mediziner)

Die Aktivität von PDH wird zum einen durch Feedback-Hemmung der aktiven Form des Enzyms und zum anderen durch das Phosphoprotein Phosphatase-G-Kinase gesteuert (Stansbie 1976). Die durch den PDH-Komplex induzierte oxidative Decarboxylierung von Pyruvat erfolgt in mehreren Teilschritten (Reed 1974). Zuerst lagert sich Pyruvat unter Abspaltung von Kohlendioxid dem Vitamin B₁ an, danach wird der Substratrest auf die α -Liponsäure übertragen, die dabei reduziert wird. Die so

entstandene Dihydroliponsäure reagiert mit Acetyl-CoA und der Acetylrest wird in den Citratzyklus abgegeben. Die α -Liponsäure wird durch Abgabe der H- Atome an FAD bzw. NAD wieder oxidiert.

Die NADH_2 liefert für die Endoxidation des Citratzyklus die nötigen H-Atome. Somit spielt die α -Liponsäure im PDH-Komplex eine Schlüsselrolle, in dem es Acetyl- und H_2 -Gruppen überträgt.

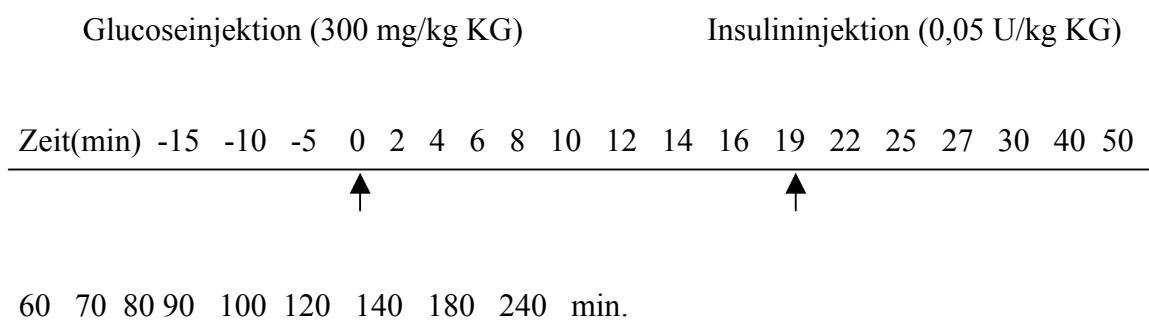
2.4. Modeling Technik zur Bestimmung der Insulinsensitivität und Glucoseeffektivität

2.4.1. FSIGTT

Nach einer Nahrungskarenz über Nacht (ca. 10-12 h) wurden bei allen Gruppen zwischen 08.00 und 09.00 Uhr die Glucosebelastungstests vor und 4 Wochen nach α -Liponsäuretherapie (nur bei Diabetischen Gruppen) durchgeführt. Die Blutentnahmen erfolgten im Cubitalareal über eine Verweilkanüle. Das im Rahmen der intravenösen Belastungen applizierte Insulin wurde am kontralateralen Arm injiziert.

FSIGTT: Der intravenöse Glucosetoleranztest wurde nach dem modifizierten Protokoll nach Welch et al. (1990) durchgeführt. Nach Bestimmung der Basalwerte von Glucose, Insulin, C-Peptid, Lactat und Pyruvat sowie der gegenregulatorischen Hormonen (Glucagon, Cortisol und ACTH) zu den Zeitpunkten -15, -10, -5 und 0 Minuten, wurde den Patienten 300 mg/kgKG Glucose 50 % über 2 Minuten als Bolus intravenös injiziert (Coates et al. 1994). Anschließend wurde über einen Zeitraum von 240 Minuten zu den angegebenen Zeitintervallen Proben zur Glucose-, Insulin- und C-Peptid-Bestimmung entnommen. Die Serumlactat- und Serumpyruvat-Konzentrationen wurden nach 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten gemessen.

Nach 20 Minuten wurden 0.05 U/Kg KG Insulin als Bolus injiziert (Welch et al. 1990).

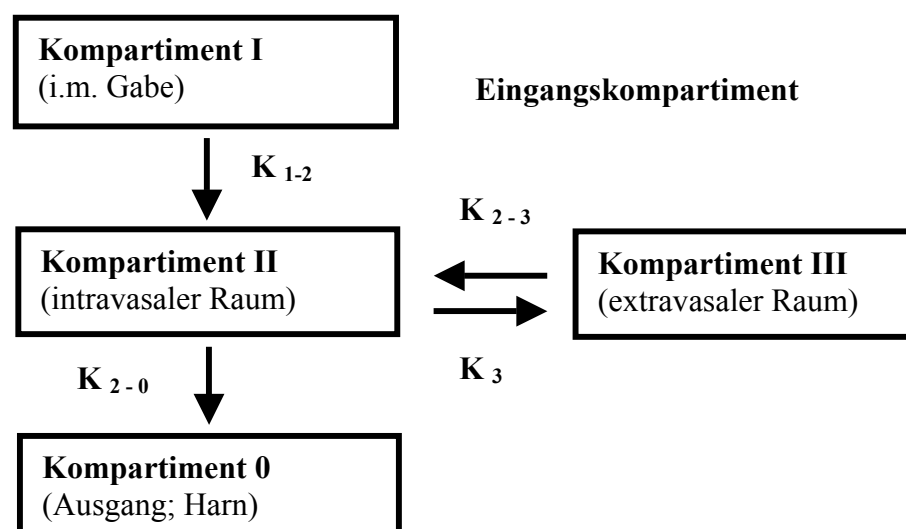


2.5. Minimal Model

Die Analyse des FSIGTT zur Bestimmung der Insulinsensitivität und der Glucoseeffektivität erfolgte mit dem Softwareprogramm „SAAM II, Version 1.0.2.“ und basiert auf der „Minimal-Modeling-Technique of Glucose Kinetics“ (Bergmann et al. 1979). Die „Minimal-Modeling-Technik“ beschreibt physiologische Regelkreisläufe mit Hilfe kompartmentaler Modelle. Ein Kompartiment ist ein hypothetischer, stoffwechselabhängiger Volumenbereich, in dem sich eine zugeführte Substanz homogen und unter identischen kinetischen Gesetzen verteilt. Wird einem solchen kompartmentalen System (siehe Abb. 3) eine Substanz mit einer definierten Konzentration zugeführt (Eingangskompartiment, z. B. intramuskuläre Applikation), so erhält man durch Konzentrationsmessungen der zugeführten Substanz ins Ausgangskompartiment (z. B. Harn) einen Verlauf der Konzentration, der sich immer wieder reproduzieren lässt. Nach Applikation einer Substanz verteilt sich diese in einem zentralen Kompartiment (z.B. intravasaler Raum), das wiederum mit einem peripheren Kompartiment in Verbindung steht (z.B. extravasaler Raum). Die Kinetik dieser Konzentrationen kann mathematisch beschrieben werden. Der Austausch zwischen unterschiedlichen Kompartimenten wird durch „Übertrittskoeffizienten“ beschrieben (Forth et al. 1983).

Abbildung 3: Darstellung eines Kompartmentalen Modells (Forth et al. 1983)

K= Übertrittskonstante oder Koeffizient

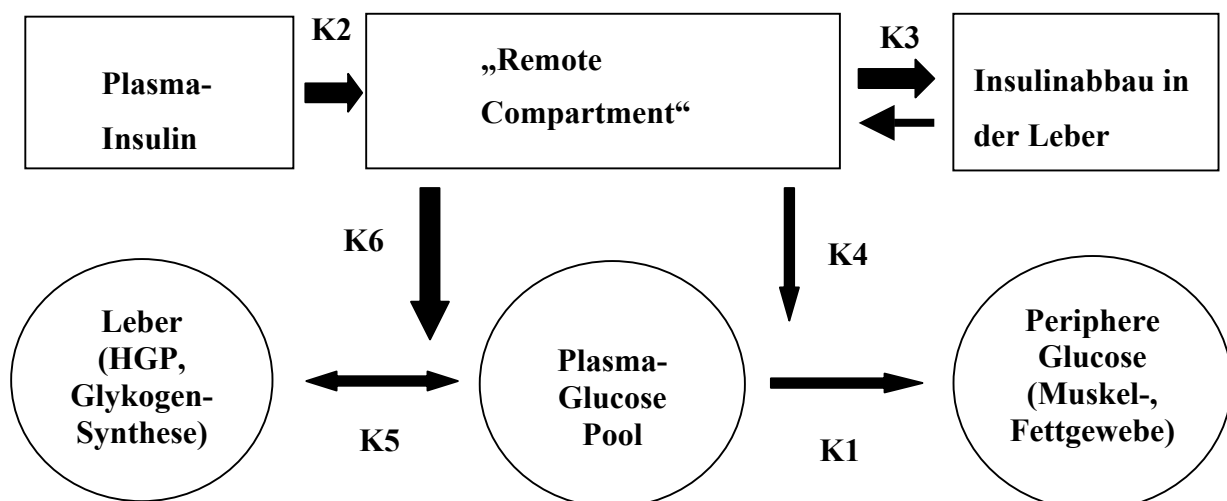


Zwei unterschiedliche physiologische Mechanismen führen zu einer Glucoseabnahme während des FSIGTT:

1. Der sog. Masseneffekt der Glucose, Glucoseeffektivität, der unmittelbar nach Glucosegabe unter basalen Insulinkonzentrationen die Glucoseaufnahme in der Peripherie induziert und gleichzeitig die hepatische Glucoseabgabe blockiert, also ohne einen Anstieg des Insulins.
2. Die insulinvermittelte Glucoseabnahme, Insulinsensitivität, die in der Peripherie und in der Leber die Glucoseaufnahme bzw. -abgabe reguliert (Bergmann 1989).

Die Modeling-Technik simuliert die dynamischen Prozesse der Glucosehomöostase mit Hilfe eines kompartmentalen Modells (Abb. 4). Die Dynamik zwischen den verschiedenen Kompartimenten wird durch die „Übertrittskoeffizienten“ $K_1 - K_6$ beschrieben. K_1 entspricht dem Masseneffekt der Glucose auf ihre periphere Utilisation, dieser Effekt wird in synergistischer Weise durch Insulin gefördert (K_4). Die Inhibition der hepatischen Glucoseproduktion durch Glucose wird durch K_5 beschrieben, dieser Effekt wird ebenfalls synergistisch durch Insulin beeinflusst (K_6). K_2 und K_3 repräsentieren den Insulintransport in bzw. aus seinem „wirksamen“ Kompartiment („Remote Compartment“).

Abbildung 4: Darstellung des Glucosestoffwechsels anhand eines kompartmentalen Modelles (Bergman et al. 1981).



Die Glucoseabnahme innerhalb einer bestimmten Zeit nach erfolgter Injektion kann durch Differentialgleichungen dargestellt werden (Gleichung 1). In ähnlicher Weise kann die Insulinkinetik nach einer Glucoseinjektion als Differentialgleichung beschrieben werden (Gleichung 2).

$$1) \frac{dG(t)}{dt} = - (P1 + X(t)) \times G(t) + P1 G(b) \quad (1)$$

$$2) \frac{dX(t)}{dt} = - P2 X(t) + P3 (I(t) - I(b)) \quad (2)$$

$G(t)$ ist die Plasmaglukosekonzentration zum Zeitpunkt t , $I(t)$ die Plasmainsulinkonzentration zum Zeitpunkt t , $G(b)$ und $I(b)$ entsprechend die Plasma-konzentrationen vor der Glucosebelastung. $X(t)$ ist die Insulinkonzentration in seinem „wirksamen“ Kompartiment. $P1$ repräsentiert die Fähigkeit der Glucose, die Glucoseaufnahme unabhängig von einem Anstieg des Basalinsulins zu induzieren. $P3$ repräsentiert den Anstieg des „wirksamen“ Insulin, $P2$ die Insulin-Elimination aus seinem „wirksamen“ Kompartiment (Bergman 1989). Anhand der im Serum gemessenen Glukosekonzentrationen während des FSIGTT („Input“) wird zunächst ein hypothetischer Insulinverlauf mathematisch ermittelt und anschließend mit den real gemessenen Insulinwerten („Output“) verglichen. Das Angleichen des hypothetischen Insulinverlaufes an den real gemessenen Insulinverlauf wird als „Fitting“ bezeichnet. Anschließend errechnet der Computer in einer nicht-linearen Analyse basierend auf dem Marquardt-Algorithmus (Marquardt, 1963) die Modeling-Parameter $P1$, $P2$ und $P3$ (Pacini et al., 1986). Diese können in abgewandelter Form durch die Koeffizienten $K1$ - $K6$ wiedergegeben werden. Dabei gilt: $P1 = K1 + K5$, $P2 = K3$ und $P3 = K2 (K4 + K6)$.

$P1$ ist mit der Glucoseeffektivität identisch, diese beträgt bei Kontrollpersonen durchschnittlich ca. $2 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ (Bergman. 1989). Dies bedeutet, dass ein Anstieg der Plasmaglukose um 100 mg/dl ohne Anstieg des Basalinsulins zu einer Erhöhung der Glucoseumsatzrate aus dem Plasma von ca. 2.1 mg pro Minute führt.

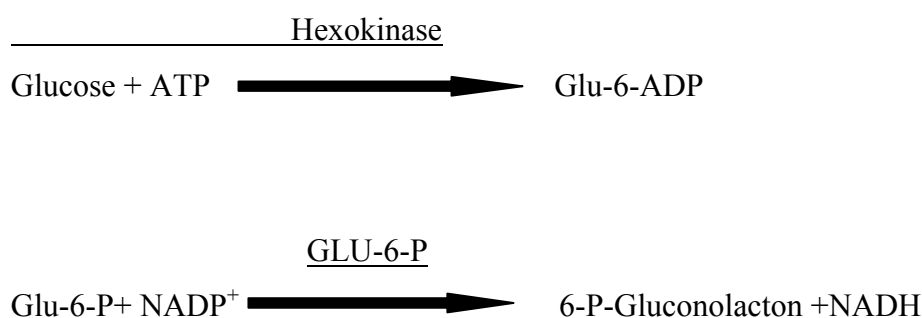
Der Quotient $P3 / P2$ entspricht der Insulinsensitivität. Bei der Kontrollgruppe wurden durchschnittlich Werte von $SI = 5 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1} \mu\text{U ml}^{-1}$ gemessen (Bergman 1989). Dies bedeutet, dass eine Insulinausschüttung von 100 $\mu\text{U/ml}$ die Glucoseumsatzrate aus dem Plasma um ca. 5% pro Minute erhöht.

Die Normalisierung des Plasmagluconspiegels nach einer Glucoseinjektion entspricht einer monoexponentiellen Funktion, d.h. die Glucose wird nach Aufnahme in einem einzelnen Kompartiment verteilt und aus diesem wieder eliminiert. Dies ist allerdings eine vereinfachte Form der Glucoseregulation, erlaubt aber dennoch die Evaluierung der Glucosetoleranzfaktoren. Die Physiologie der Glucosetoleranz vollzieht sich aber in zwei Kompartimenten, die mittels markierter Glucose genau nachvollzogen werden kann (Avogaro et al. 1996; Quan et al. 1994). Das zweite Kompartiment entspricht vermutlich dem Interstitium und wird als „Remote Compartment“ bezeichnet (Bergman 1989). Diese Untersuchungsmethode ist allerdings teuer und sehr aufwendig und deshalb zur Routinediagnostik nicht einsetzbar. Daher wird das monokompartimentale Model der Glucoseregulation als „Minimal-Modeling-Technik“ bezeichnet.

2.6. Parameter des Glucosestoffwechsels

2.6.1. Glucose in Serum

Der quantitative Nachweis von Glucose im venösen Vollblut erfolgte in Doppelbestimmung auf enzymatischem Weg nach der Hexokinase-Methode. In Anwesenheit von Adenosintriphosphat (ATP) wird Glucose durch Hexokinase (HK) zu Glucose-6-Phosphat (Glu-6-P) phosphoryliert. In einem 2. Schritt wird Glucose-6-Phosphat durch die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (Glu-6-P-DH) unter Reduktion des Coenzym NADP⁺ zu 6-Phospho-Gluconolacton umgewandelt (Kruse-Jarres et al. 1995).



Meßgröße ist die Reduktion von NADP^+ zu NADH , das photometrisch bei 340 nm gemessen werden kann. Die im Ansatz vorhandene Glucosemenge ist direkt proportional zur NADH Zunahme.

Beim Ansatz wurden 20 μl venöses Blut direkt nach der Entnahme in NH_4 -heparinisierte Einmal-Kapillarpipetten (Firma Brand) aufgezogen, in Eppendorf-Reaktionsgefäßen mit 1 ml Hämolysehemmer (Hämolyse Reagenz „Fluid“, Boehringer Mannheim), der Dodecylsulfat (1.8/l) enthält, gut vermischt und in geschlossenem Zustand bei 4°C gelagert. Alle Analysen wurden innerhalb einer Woche nach Entnahme mit dem computergesteuerten Analysegerät „Beckmann Clinical System 700“ im Labor der Diabetes-Ambulanz durchgeführt. Von den Doppelbestimmungen wurde dann der Mittelwert errechnet.

Als Reagenz wurde Glucoquant Glucose von Boehringer Mannheim verwendet. Die Normalwerte werden zwischen 76-110 mg/dl bzw. 4.22-6.11 mmol/l (in Serum und Plasma im Nüchternzustand) angegeben.

2.6.2. Pyruvat

Pyruvat wird mittels Lactatdehydrogenase (LDH) und NADH enzymatisch zu L-Lactat reduziert.



Da das Reaktionsgleichgewicht weit nach rechts verschoben ist, entspricht die Abnahme der NADH -Menge der Menge an Pyruvat. (Czock et al. 1974) NADH kann aufgrund seines Absorptionsmaximums photometrisch bei 365 nm als Meßgröße bestimmt werden. (Rick 1974)

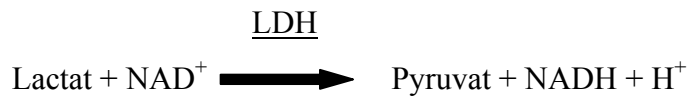
Beim Ansatz werden 4 ml Vollblut unmittelbar nach Entnahme mit 4 ml eiskalter Perchlorsäure (1 mol/l) enteiweißt und zunächst im Eisbehälter aufbewahrt. Im Anschluss an die Untersuchung zentrifugiert man die Proben bei 3000 U/min 10 Minuten lang. 2 ml des Überstandes werden in einem Reagenzglas mit 1 ml Phosphat versetzt, ca. 15 Minuten im Eisbehälter stehen gelassen und danach 10 Minuten lang zentrifugiert. In eine Küvette pipettiert man davon 1 ml Überstand und 0.1 ml NADH, mischt das Ganze mit einem Plastikspatel und mißt dann mit dem Photometer (LKB-Biochrom Ultraspec II, Pharmica Biosystem, Freiburg) die Extinktion E1. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe von 0.01 ml LDH ausgelöst. Die Lösung wird erneut mit einem Spatel gemischt und der Stillstand der Reaktion abgewartet, der ca. nach 15 Minuten eintritt. Danach kann man mit dem Photometer die Extinktion E2 bestimmen.

Von jeder Blutabnahme wurde eine Doppelbestimmung ausgeführt und aus den beiden Werten der Mittelwert gebildet. Der Pyruvatgehalt in $\mu\text{mol/l}$ entspricht dann $905 \times dE$ (Extinktionsdifferenz $dE = E1 - E2$).

Als Reagenz wurde MPR 1 Pyruvat 124982 von Boehringer Mannheim verwendet. Die Normalwerte werden zwischen 41 - 67 $\mu\text{mol/l}$ (im Nüchternblut) angegeben.

2.6.3. Lactat und β -Hydroxybutyrat

Lactat wird in Gegenwart der Lactatdehydrogenase (LDH) und NAD^+ zu Pyruvat und NADH oxidiert. Da das Gleichgewicht dieser Reaktion weit nach links verschoben ist, muss das Reaktionsgleichgewicht zur Bestimmung des Lactatgehaltes auf die rechte Seite verlagert werden. Diese erreicht man durch einen NAD^+ -Überschuß und das Herstellen eines alkalischen Milieus. Die Entfernung des Pyruvats erfolgt unter der enzymatischen Einwirkung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) mit Glutamat durch Umwandlung in Alanin und α -Ketoglutarat. In einem 3. Schritt wird β -Hydroxybutyrat und NAD^+ durch die β -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (β -HBDH) zu Acetoacetat und NADH oxidiert (Rick 1974).



Im Ansatz werden 2 ml Blut in ein Reagenzglas mit 25 µl Gerinnungshemmer (s.u.) pipettiert. Nach dem Mischen wird der Ansatz zunächst im Eisbehälter aufbewahrt, und innerhalb von ca. 2 Stunden, 10 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert. Der gewonnene Überstand wird dekantiert und zur Bestimmung eingesetzt.

0.02 ml Patientenserum (1), 2 ml Tris-Glutamat-Puffer (2), 0.2 ml NAD-Lösung (3) und 0.02 ml GPT (4) werden in eine Küvette im Doppelansatz pipettiert. Gleichzeitig werden 2 Leerwerte (mit jeweils 2, 3, 4) und 2 Kontrollwerte (mit jeweils 2, 3, 4, und 0,02 ml Validate) vorbereitet. Nach dem Mischen der Ansätze wird die Extinktion E1 mit einem Photometer (4010, Boehringer Mannheim) bei einer Wellenlänge von 340 nm gemessen. Die Ansätze werden wieder gut gemischt und nach 20 Minuten wird die Extinktion E2 photometrisch bestimmt. Zum Schluß gibt man jeweils 0,02 ml LDH dazu, und mißt 10 Minuten nach dem Mischen die Extinktion E3. Es wurden folgende Reagenzien verwendet:

Tris (Hydroxymethyl)-Aminomethan (Boehringer Nr. 127434), L-Glutaminsäure (Merck Nr. 291), Naturlauge 1mol/l N (Merck Nr.9137), β-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase (Boehringer Nr. 127833), Lactatdehydrogenase (Boehringer Nr. 127230), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (Boehringer Nr. 737127), NAD 100% freie Säure (Boehringer Nr. 127973), Kontrollserum Validat-N (Goedecke Nr. 917613), Kaliumfluorid (Merck Nr. 4994), KEDTA=Aethylendiamin-Tetraessigsäure-Di-Kaliumsalz-Dihydrat (Roth).

Bei der Herstellung von Tris-Glutamat-Puffer (PH 9.5) wird 24g Tris mit 3g Glutaminsäure und 700 ml Aqua dest. gemischt, mit 1 N NaOH auf pH 9.5 eingestellt und auf 1000 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Für die NAD-Lösung werden 0.2054 g NAD in 10ml Aqua dest. gelöst. Für den Gerinnungshemmer wird eine 25 %ige Lösung von Kaliumfluorid (2.5 g KF in 10 ml H₂O) und eine 20 %ige Lösung von KEDTA (2.0 g KEDTA in 10 ml H₂O) hergestellt, und davon 1 Teil Kaliumfluorid und 2 Teile KEDTA (5 ml KF und 10 ml K-EDTA-Lösung) miteinander vermischt. Von den Doppelbestimmungen wird der Mittelwert errechnet.

Die Berechnung erfolgt wie folgt:

Extinktion E2 - Extinktion E1 - Leerwertdifferenz x 358 = β -Hydroxybutyrat

Extinktion E3 - Extinktion E2 - Leerwertdifferenz x 312 = Lactat

Als Normalwerte gelten für β -Hydroxybutyrat bis 2.0 mg/100 ml Plasma, für Lactat zwischen 6 - 20 mg/ 100 ml (0.63-2.44 mmol/l) Plasma.

2.6.4. Insulin

Die quantitative Bestimmung des Insulin wurde mit einem Doppel-Antikörper-Radioimmunoassay (RIA) vorgenommen („Pharmacia Insulin RIA 100, der Firma Kabi Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala).

In der Probe konkurriert Insulin mit einer bestimmten Menge Jod¹²⁵-markiertem Insulin um die Bindungsstellen der spezifischen Antikörper. Gebundenes und freies Insulin werden mit Hilfe einem zweiten Antikörperimmunabsorbent und anschließender Zentrifugation und Dekantierung getrennt. Danach wird die Radioaktivität mit dem Gamma-Counter (LB 2111 der Firma Berthold) gemessen. Die Radioaktivität ist der Menge unmarkiertem Insulin in der Probe umgekehrt proportional (Kabi Pharmacia Diagnostics AB, 1993). Für den Ansatz wird in Serumröhrchen entnommenes Venenblut bei 3000 U/min 10 Minuten zentrifugiert. Das so gewonnene Patientenserum wird

zunächst bei -24°C tief gefroren, und danach nach der Anleitung des „Pharmacia Insulin RIA“ (Kabi Pharmacia Diagnostics AB 1993) nach o. g. Prinzip ausgewertet.

Die Normalwerte (mittleren Nüchternwert) werden unterhalb $20\ \mu\text{U}/\text{ml}$ gemessen

Präzision:	Probe	Mittelwert	Intra- Assay	Inter- Assay
		($\mu\text{U}/\text{ml}$)	(%)	(%)
	1	11.6	5.8	5.8
	2	32.7	5.4	6.4
	3	65.2	5.7	6.5

2.6.5. C-Peptid

Die quantitative Bestimmung erfolgt mit dem Radioimmunoassay („C- Peptid- RIA. DAK/PEG (J^{125})“, Diagnostic Products Corporation DPC, Bad Nauheim).

Das Testprinzip entspricht ebenfalls einer kompetitiven RIA. Messung der C-Peptidkonzentration mit dem „Multi Kristall Gamma Counter LB 2111“. Die Normalwerte im Nüchternblut (Serum) liegen zwischen $0.8 - 4.0\ \text{ng}/\text{ml}$ (DPC, 11/91).

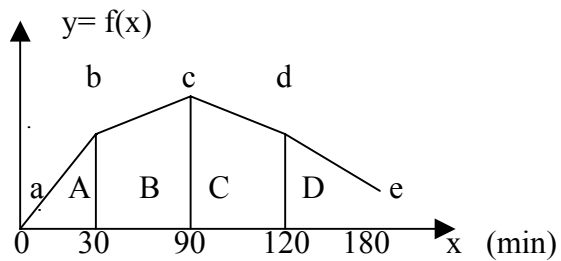
2.7. Statistische Methoden

Auswertung der Parameter unter Glucosebelastungstest erfolgte durch Berechnung der AUC für diese Parameter.

Die AUC beschäftigt sich mit der Berechnung von Flächeninhalten, die durch den Graphen einer Funktion begrenzt wird.

Die Ermittlung des AUC einer Funktion wird dann folgend berechnet:

Der Graph der Funktion F , die X-Achse zwischen den Stellen t_1 und t_2 sowie die vertikalen $t = a$ und $t = b$ begrenzen die Fläche A .



$$\text{Fläche A} = \frac{(30-0) \times (a+b)}{2}$$

$$\text{Fläche C} = \frac{(120-90) \times (a+b+c+d)}{2}$$

$$\text{Fläche B} = \frac{(90-30) \times (a+b+c)}{2}$$

$$\text{Fläche D} = \frac{(180-120) \times (a+b+c+d+e)}{2}$$

$$\text{AUC} = A + B + C + D$$

Die Daten sind als mittlere Fehler des Mittelwertes (\pm SEM) angegeben. Unterschiede innerhalb der Kontrollgruppen wurden mit dem Student's t-Test bzw. Rangsummentest, zwischen Kontrollgruppen und Patienten mit Diabetes mellitus 2 mit der Varianzanalyse (ANOVA) ermittelt. Ein $P < 0.05$ war signifikant.

1. Ergebnisse

3.1. Kontrollkollektiv

Nüchtern-glucose, Lactat- und Pyruvatkonzentrationen waren in der Gruppe mit den übergewichtigen Kontrollpersonen, verglichen mit den normalgewichtigen Kontrollpersonen deutlich erhöht (Tabelle 1).

Tabelle 1: zeigt die Eigenschaften der Kontrollgruppe

	normalgewichtig (n=10)	übergewichtig (n=10)
Alter (Jahre)	53.5 ± 6	51.7 ± 7
BMI (Kg/m ²)	23.8 ± 0.9	29.5 ± 0.3**
HbA _{1c} (%)	4.4 ± 0.2	4.8 ± 0.3
Glucose (nüchtern) (mmol/l)	4.2 ± 0.1	4.7 ± 0.2
Insulin (Pmol/l)	44.0 ± 3	78.3 ± 5**

Tabelle 1

	normalgewichtig (n=10)	übergewichtig (n=10)
Lactat (mmol/l)	1.78 ± 0.2	2.26 ± 0.21
Pyruvat (µmol/l)	60.7 ± 3.4	87.2 ± 6.6**
SI (x 10 ⁻⁴ min ⁻¹ x µU ⁻¹ x ml ⁻¹)	5.22 ± 1.01	1.75 ± 0.65***
SG (x 10 ⁻² min ⁻¹)	2.68 ± 0.24	1.79 ± 0.45**
(FSD %)	20 ± 6	24 ± 4
AUC (Lactat) mmol/l	197.8 ± 19	244.3 ± 18
AUC (Pyruvat) µmol/l	7920 ± 624	6443 ± 773

Die Daten sind angegeben als Mittelwert ± SEM. Normalgewichtige wurden mit übergewichtigen Kontrollpersonen verglichen (** P < 0.01; *** P < 0.001).

3.1.1. SI und SG Werte bei der Kontrollgruppe

Die Nüchtern-Glucosekonzentrationen waren zwischen beiden Kontrollgruppen nicht signifikant verändert. Unter Glucosebelastung stiegen die Glucose- und Insulinwerte bei den übergewichtigen Kontrollpersonen deutlicher als bei den normalgewichtigen an (Abb. 2a, 2b).

Die errechneten Werte für Insulinsensitivität betragen bei normalgewichtigen Probanden $SI = 5.22 \pm 1.01$ vs. 1.75 ± 0.65 ($\times 10^{-4} \text{ min}^{-1} \times \mu\text{U}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$) bei übergewichtigen Kontrollpersonen, $P < 0.001$. Die SI Werte waren bei allen übergewichtigen Personen in einer negativen Relation zum Nüchtern-Glucosespiegel ($r = -0.46$, $* P < 0.05$). Die Werte für Glucoseeffektivität waren bei normalgewichtigen ($SG = 2.68 \pm 0.24 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$) gegenüber übergewichtigen Kontrollpersonen ($SG = 1.79 \pm 0.45 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$) signifikant höher (** $P < 0.01$).

3.1.3. Lactat und Pyruvatkonzentration unter intravenöser Glucosebelastung

Im Nüchternzustand waren die Lactatkonzentrationen in den übergewichtigen Gruppen deutlich höher. Unter Belastung waren zwischen beiden Gruppen keine Unterschiede festzustellen.

Die Fläche unter der Kurve (AUC) für Lactat war in beiden Gruppen ähnlich (197.8 ± 19 mmol/l bei normal- und 244.3 ± 18 mmol/l bei übergewichtigen Kontrollpersonen) ($P=0.06$) (Abb. 2c).

Auch die Pyruvatkonzentrationen bei den übergewichtigen Kontrollpersonen verglichen mit den normalgewichtigen Probanden waren vor der Belastung deutlich erhöht (87.2 ± 6.6 $\mu\text{mol/l}$ vs. 60.70 ± 3.4 $\mu\text{mol/l}$, ** $P < 0.01$).

Die AUC für Pyruvat war bei übergewichtigen im Vergleich zu normalgewichtigen Kontrollpersonen signifikant erhöht. (7920 ± 624 vs. 6443 ± 773 $\mu\text{mol/l}$, $* P < 0.05$) (Abb. 2d).

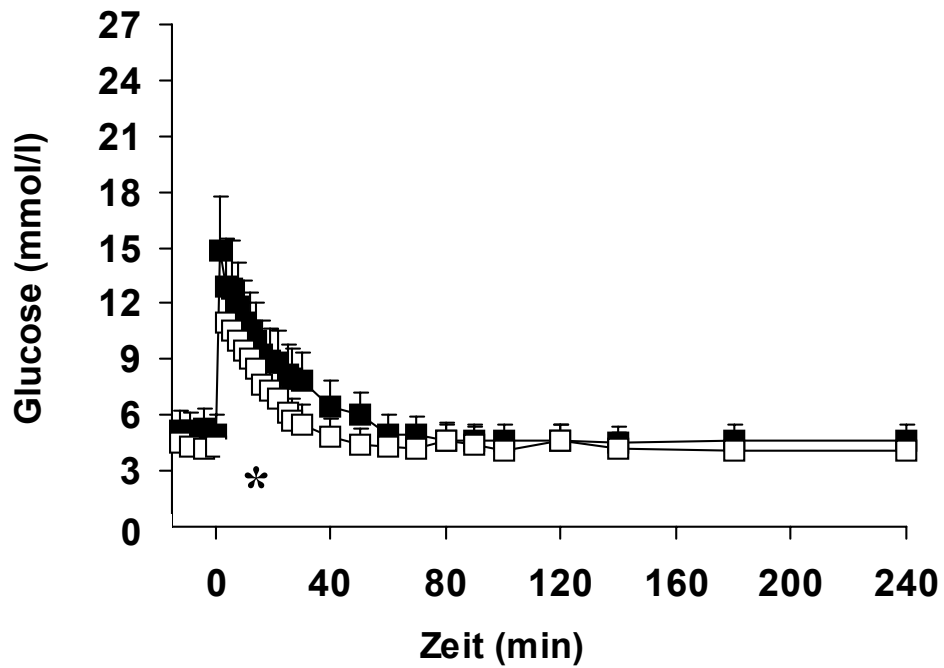


Abbildung 2a: Glucosekonzentration nach FSIGTT bei normalgewichtigen (□) und übergewichtigen Kontrollgruppen (■) (* $P < 0.05$)

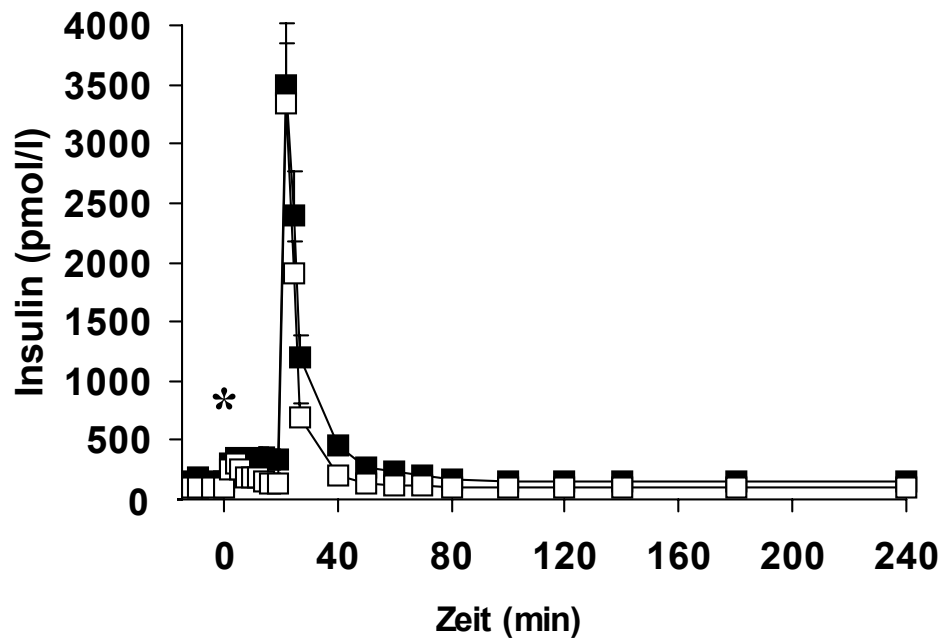


Abbildung 2b: Insulinkonzentration nach FSIGTT bei normalgewichtigen (□) und übergewichtigen Kontrollgruppen (■) (* $P < 0.05$)

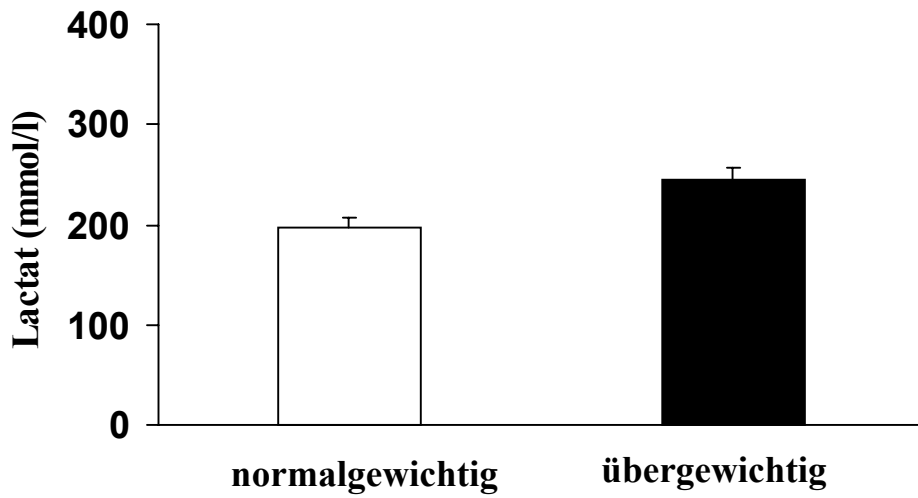


Abbildung 2c:
 □ AUC für Lactat bei Normalgewichtigen (Kontrollgruppe)
 ■ AUC für Lactat bei Übergewichtigen (Kontrollgruppe) (P=0.06)

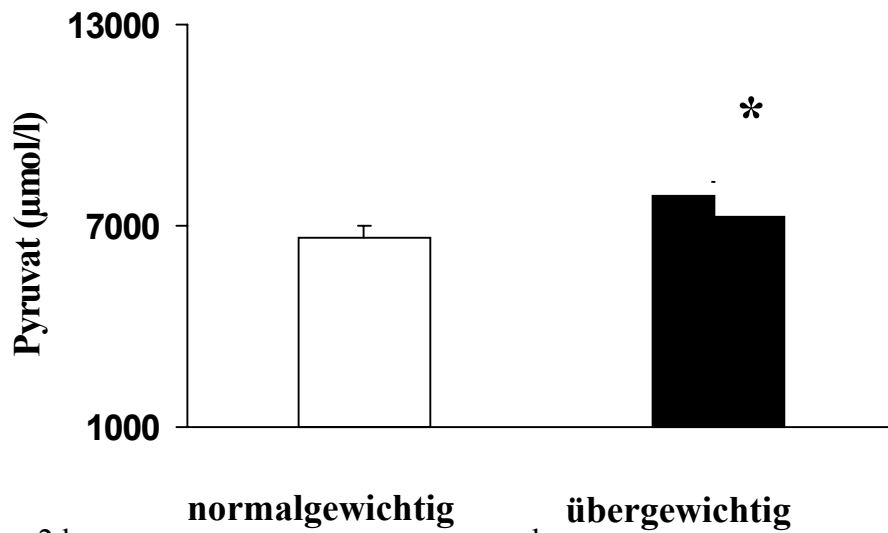


Abbildung 2d:
 □ AUC für Pyruvat bei Übergewichtigen (Kontrollgruppe) (* P<0.05)

Abbildung 2 zeigt die Glucose- (2 a), Insulin- (2 b), AUC für Laktat- (2 c) und Pyruvat (2d) nach intravenöser Glucosebelastung (FSIGTT) bei übergewichtigen (■) und normalgewichtigen (Ž) Kontrollpersonen mit normaler Glucosetoleranz. Während der FSIGTT als auch nach 240 Minuten sind die Insulin- und Glucosekonzentrationen bei den übergewichtigen Patienten deutlich erhöht (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$). SI hat eine negative Relation zu dem Nüchtern-glucosewerten. Die AUC für Laktat- und Pyruvat vor Belastung sind in der Gruppe mit übergewichtigen Probanden höher.

(Lactat $P = 0.06$; Pyruvat * $P < 0.05$)

3.2. Patienten mit Diabetes mellitus 2

Bei den übergewichtigen Patienten waren die Glucose-, Pyruvat- und Insulin - Konzentrationen im Nüchternzustand verglichen mit den normalgewichtigen Patienten deutlich erhöht (Tabelle 2). Die Nüchternlactatkonzentrationen waren zwischen beiden Diabetikergruppen nicht signifikant verändert.

Tabelle 2. zeigt die Eigenschaften der Patienten mit Diabetes mellitus 2

	DM 2	
	Normalgewichtig (n=10)	Übergewichtig (n=10)
Alter (Jahre)	56.2 ± 1.7	51.5 ± 2.4
Diabetesdauer (Jahre)	7.3 ± 1.0	5.8 ± 0.7
BMI kg/m ²	23.6 ± 0.5	29.9 ± 0.7 **
HbA _{1c}	6.5 ± 0.2	8.1 ± 0.2 ***
Basale Glucose (mmol/l)	9.04 ± 0.4	11.7 ± 0.6 ***
Basales Insulin (pmol/l)	48.8 ± 4.7	68.1 ± 4.6 **
Basales Lactat (mmol /l)	2.42 ± 0.17	2.76 ± 0.12
Basales Pyruvat (µmol/l)	90.99 ± 6.1	128.87 ± 8.9***

Die Daten sind als Mittelwerte ± SEM angegeben. Es wurden die normalgewichtigen mit übergewichtigen Diabetiker verglichen (** P < 0.01, *** P < 0.001)

3.2.1. SI, SG, Glucose-, Lactat- und Pyruvatkonzentrationen, während Glucosebelastung vor der Therapie

Vor der Therapie zeigten die SI und SG Werte in beiden Diabetikergruppen ähnliche Verläufe ($1.28 \pm 0.17 \times 10^{-4} \text{min}^{-1} \times \mu\text{U}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$ vs. $1.02 \pm 0.16 \times 10^{-4} \text{min}^{-1} \times \mu\text{U}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$; Tab. 3 und $1.28 \pm 0.14 \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$ vs. $1.07 \pm 0.11 \times 10^{-2} \text{min}^{-1}$; Tab. 4).

Die Nüchternglucosekonzentrationen waren vor der Therapie in der Gruppe der normalgewichtigen Diabetiker niedriger als in der übergewichtigen Gruppe ($9.04 \pm 0.4 \text{mmol/l}$ vs. $11.7 \pm 0.6 \text{mmol/l}$, (***) $P < 0.001$); Tab. 2). Während des Glucosebelastungstests stiegen in beiden Gruppen die Glucosewerte pathologisch an. Die Werte waren nach 240 Minuten bei übergewichtigen Diabetikern deutlich erhöht (Abb. 3a - 4a).

Die Lactatkonzentrationen bei den normalgewichtigen Diabetiker waren im Nüchternzustand verglichen mit den normalgewichtigen Kontrollpersonen deutlich erhöht ($2.42 \pm 0.17 \text{mmol/l}$ vs. $1.78 \pm 0.20 \text{mmol/l}$, ** $P < 0.01$; Tabelle 1, 2). Die AUC für Lactat war bei den normalgewichtigen Diabetikern verglichen mit den normalgewichtigen Kontrollgruppe größer ($272 \pm 19 \text{mmol/l} \times \text{min}$ vs. $197.8 \pm 19 \text{mmol/l} \times \text{min}$, Abb. 2c, 3b).

Auch bei den übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus lag die Nüchternlactat-Konzentration höher als bei der übergewichtigen Kontrollgruppe ($2.76 \pm 0.12 \text{mmol/l}$ vs. $2.26 \pm 0.21 \text{mmol/l}$, ** $P < 0.01$; Tabelle 1, 2).

Die AUC für Lactat war bei den übergewichtigen Diabetikern größer als bei der übergewichtigen Kontrollgruppe ($354.9 \pm 34.5 \text{mmol/l} \times \text{min}$ vs. $244.3 \pm 18 \text{mmol/l} \times \text{min}$).

Die Nüchternpyruvatkonzentrationen waren sowohl in der normalgewichtigen als auch in der übergewichtigen Patientengruppe mit Diabetes mellitus 2 verglichen mit den entsprechenden Kontrollgruppen deutlich erhöht ($60.7 \pm 3.4 \mu\text{mol/l}$ vs. $90.99 \pm 6.1 \mu\text{mol/l}$ *** $P < 0.001$ und $87.2 \pm 6.6 \mu\text{mol/l}$ vs. $128.87 \pm 8.9 \mu\text{mol/l}$ ** $P < 0.01$ Tab. 1, 2).

Die errechneten AUC für Pyruvat waren bei beiden Diabetikergruppen ähnlich (Abb. 3b, 3c), wohl aber größer als bei den Kontrollgruppen (Abb. 2c, 2d).

3.2.2. SI, SG, Glucose-, Lactat- und Pyruvatkonzentrationen, während Glucosebelastung nach α -Liponsäuretherapie

Nach vierwöchiger Behandlung mit α -Liponsäure wurde bei normalgewichtigen Diabetikern eine signifikante SI-Zunahme beobachtet (Tab. 3, 4). Bei den übergewichtigen Diabetikern hingegen hatte sich die SI vor der Therapie ($1.02 \pm 0.16 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1} \times \mu\text{U}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$ vs. $1.21 \pm 0.15 \times 10^{-4} \text{ min}^{-1} \times \mu\text{U}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$) nach der vierwöchigen Behandlung nicht signifikant verändert.

Die Glucoseeffektivität stieg nach α -Liponsäuretherapie bei beiden Gruppen signifikant an. Der Effekt war aber bei normalgewichtigen Diabetikern deutlicher (Tab. 3). Bei normalgewichtigen Diabetikern war eine Zunahme der SG ($1.28 \pm 0.14 \times 10^{-2} \text{ ml}^{-1}$ vs. $1.93 \pm 0.13 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, ** $P < 0.01$), wie bei übergewichtigen Diabetikern ($1.07 \pm 0.11 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ vs. $1.53 \pm 0.08 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, * $P < 0.05$) zu beobachten.

Nach vierwöchiger Behandlung mit α -Liponsäure fielen die Nüchternwerte für Glucose in der normalgewichtigen Gruppe mit Diabetes mellitus signifikant ab (* $P < 0.05$; Abb. 3a). Bei den übergewichtigen Diabetikern wurden die Nüchternglucosekonzentrationen niedriger, statistisch ließ sich aber keine Signifikanz ermitteln ($P = 0.06$; Abb. 4a).

Unter α -Liponsäuretherapie konnte man nach Glucosebelastung keine Erhöhung der Lactatkonzentrationen feststellen, vielmehr ließen sich Konzentrationen messen, die niedriger waren als in den entsprechenden Kontrollgruppen. Auch bei übergewichtigen Diabetikern war eine signifikante Abnahme der Lactatwerte festzustellen. Die AUC für Lactat nahm unter α -Liponsäure Therapie in beiden Gruppen ab ($272.9 \pm 19 \text{ mmol/l} \times \text{min}$ vs. $226.4 \pm 18 \text{ mmol/l} \times \text{min}$ ($P = 0.08$) bei normalgewichtigen Diabetikern und $354.9 \pm 34.5 \text{ mmol/l} \times \text{min}$ vs. $255.3 \pm 22.4 \text{ mmol/l} \times \text{min}$ (* $P < 0.05$) bei übergewichtigen Diabetikern).

Die Einnahme von α -Liponsäure führte zu einer Abnahme der Pyruvatkonzentration bei beiden Diabetikergruppen. Die α -Liponsäureeinnahme war mit einer Abnahme der AUC für Pyruvat verbunden ($11.021 \pm 669 \mu\text{mol/l} \times \text{min}$ vs. $7.921 \pm 624 \mu\text{mol/l} \times \text{min}$ bei normalgewichtigen (** $P < 0.01$) und $12.242 \pm 871 \mu\text{mol/l} \times \text{min}$ vs. $8.723 \pm 1.069 \mu\text{mol/l} \times \text{min}$ (** $P < 0.01$) bei übergewichtigen Diabetikern).

Tabelle 3: zeigt die SI Werte bei normalgewichtigen und übergewichtigen Diabetikern vor und nach Therapie mit α - Liponsäure

normalgewichtige Diabetiker (n=10)	SI	FSD%	SI	FSD%
	$\times 10^{-4} \text{ min}^{-1} \times \text{mU}^{-1} \times \text{ml}^{-1}$	min^{-1}	$\times 10^{-4} \text{ min} \times \text{mU} \times \text{ml}^{-1}$	min^{-1}
	Vorher		Nachher	
1	2.03	23	2.13	12
2	1.32	16	1.88	11
3	0.79	28	0.56	32
4	1.21	43	1.09	33
5	0.86	9	1.43	15
6	0.76	3	0.86	23
7	1.88	14	2.42	15
8	1.31	7	1.66	8
9	0.66	4	1.14	9
10	1.99	8	2.38	11
Mittelwert \pm SEM	1.28 \pm 0.17		1.56 \pm 0.21**	
übergewichtige Diabetiker (n=10)	Vorher		Nachher	
1	0.99	12	1.03	18
2	0.34	25	0.37	28
3	1.35	38	1.45	18
4	1.52	31	1.42	11
5	0.88	12	1.87	9
6	0.23	20	0.67	27
7	1.75	15	1.76	41
8	0.66	9	1.07	22
9	1.50	8	1.29	7
10	0.99	11	1.19	9
Mittelwert \pm SEM	1.02 \pm 0.16		1.21 \pm 0.15	

Tabe

Tabelle 4: zeigt die SG Werte bei den normalgewichtigen und übergewichtigen Diabetikern vor und nach α -Liponsäure Therapie

normalgewichtige Diabetiker (n=10)	SG	FSD (%)	SG	FSD (%)
	$\times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$	min^{-1}	$\times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$	min^{-1}
	Vorher		Nachher	
1	1.45	7	1.86	12
2	0.89	3	1.06	10
3	1.68	15	1.96	4
4	1.72	7	1.53	8
5	1.83	23	2.29	24
6	1.56	14	2.31	6
7	0.89	17	2.14	28
8	0.55	5	1.64	23
9	1.09	8	2.09	12
10	1.10	16	2.38	5
Mittelwert \pm SEM	1.28 \pm 0.14		1.93 \pm 0.13 **	

Die Daten sind als Mittelwerte \pm SEM angegeben. Es wurden die SI -Werte bei den normalgewichtigen und übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2 jeweils vor und nach α -Liponsäuretherapie verglichen (* * P < 0.01)

**übergewichtige
Diabetiker (n=10)**

Vorher

Nachher

1	1.23	12	1.77	34	8
2	1.66	14	1.20		6
3	1.35	7	1.72		24
4	0.86	8	1.54		26
5	0.39	21	1.86		17
6	1.09	22	1.52		3
7	1.24	15	1.76		9
8	0.66	4	1.45		17
9	1.21	3	1.29		21
10	0.99	8	1.19		6

Mittelwert \pm SEM 1.07 \pm 0.11

1.53 \pm 0.08*

Die Daten sind als Mittelwerte \pm SEM angegeben. Es wurden die SG Werte bei den normalgewichtigen und übergewichtigen Diabetikern jeweils vor und nach α -Liponsäuretherapie verglichen (** P < 0.01, * P < 0.05)

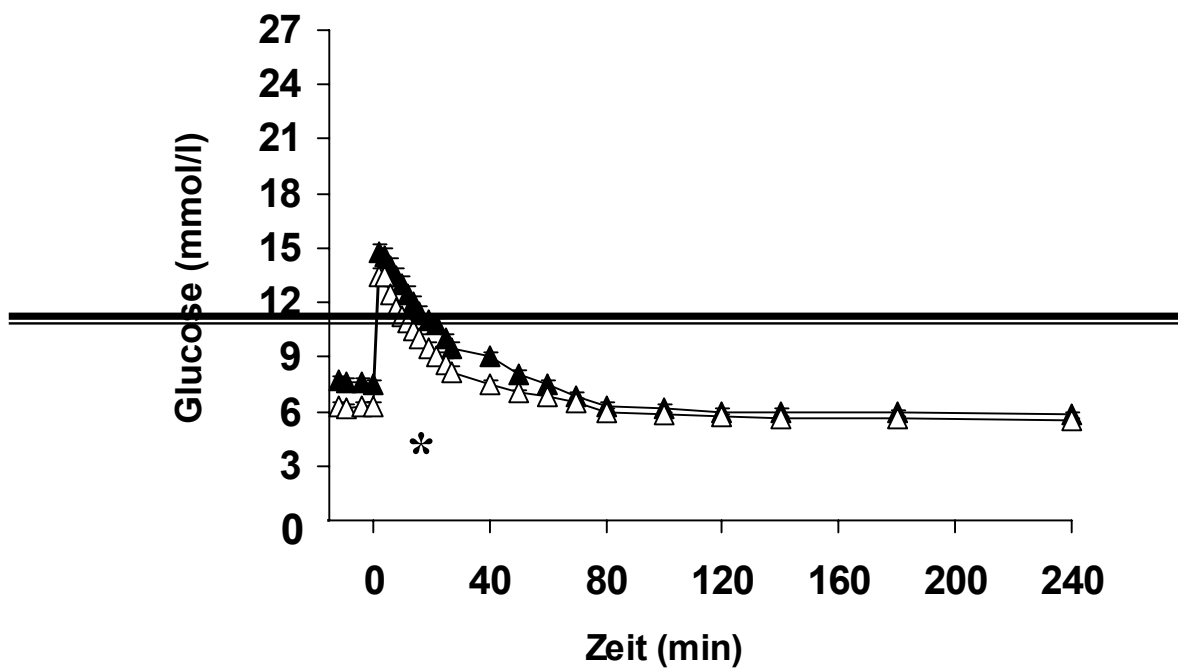


Abbildung 3a: Glucosekonzentrationen bei normalgewichtigen Diabetikern vor (▲) und nach Therapie (△) (* P<0.05)

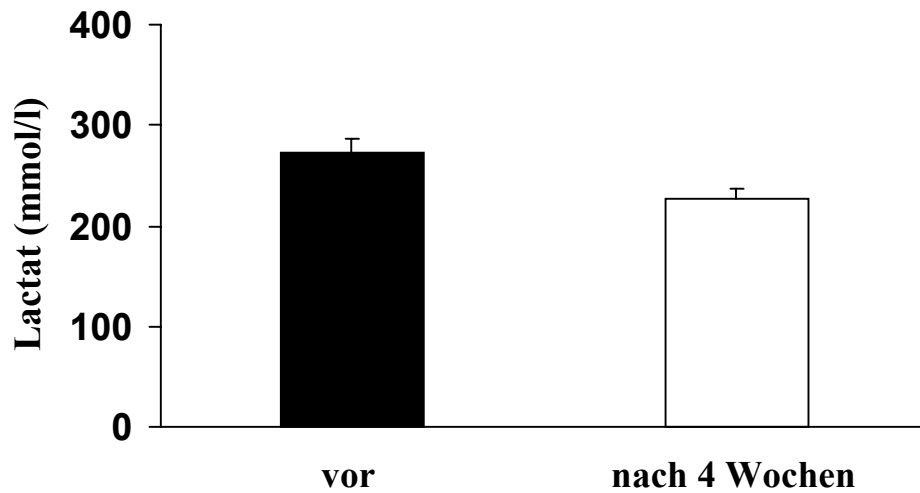


Abbildung 3b: ■ AUC für Lactat bei normalgewichtigen Diabetikern vor Therapie
 □ AUC für Lactat bei normalgewichtigen Diabetikern nach Therapie
 (P = 0.08)

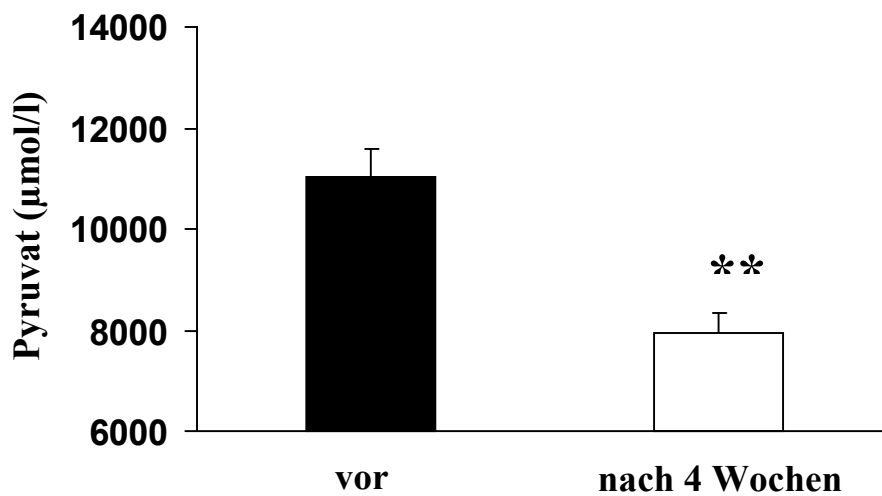


Abbildung 3c: ■ AUC für Pyruvat bei normalgewichtigen Diabetikern vor Therapie,
 □ AUC für Pyruvat bei normalgewichtigen Diabetikern nach Therapie
 (** P<0.01)

Abbildung 3 zeigt die Glucosekonzentration (3a) und AUC für Lactat (3b) nach FSIGTT bei normalgewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2 vor ■ und nach □ α -Liponsäure



Gabe über 4 Wochen. Nach Therapie sind die basalen Glucosewerte signifikant niedriger als vor der Therapie (* $P < 0.05$). Vor der Therapie war das AUC für Lactat (272.9 ± 19 vs 226.4 ± 18 nach der Therapie deutlich erhöht).

Die AUC für Pyruvat (3c) war unter α -Liponsäure deutlich niedriger als vor der Therapie (** $P < 0.01$).

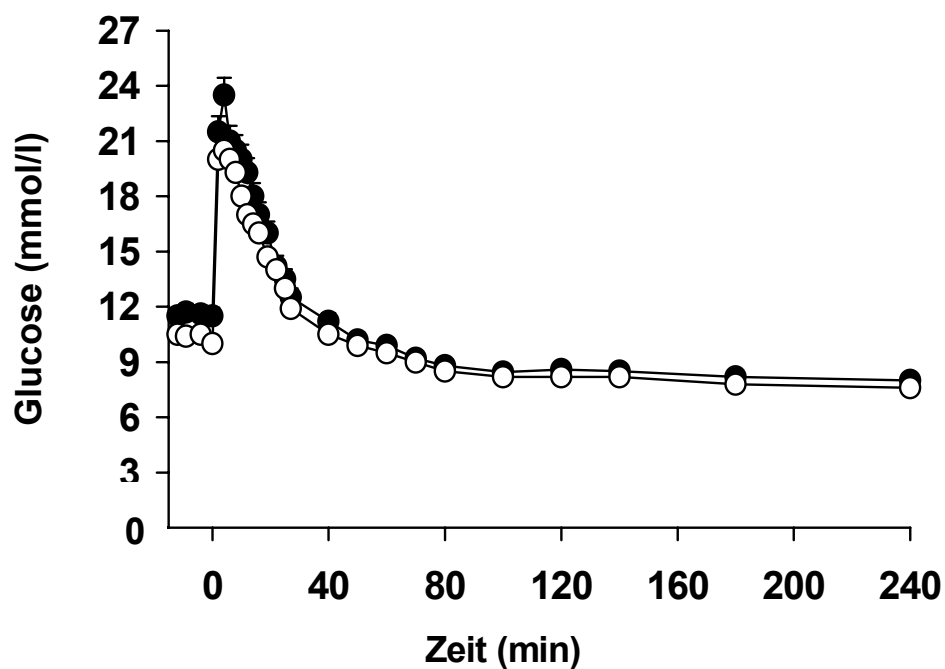


Abbildung 4a: Glucosekonzentrationen bei übergewichtigen Diabetikern vor (●) und nach Therapie (○) ($P = 0.06$)

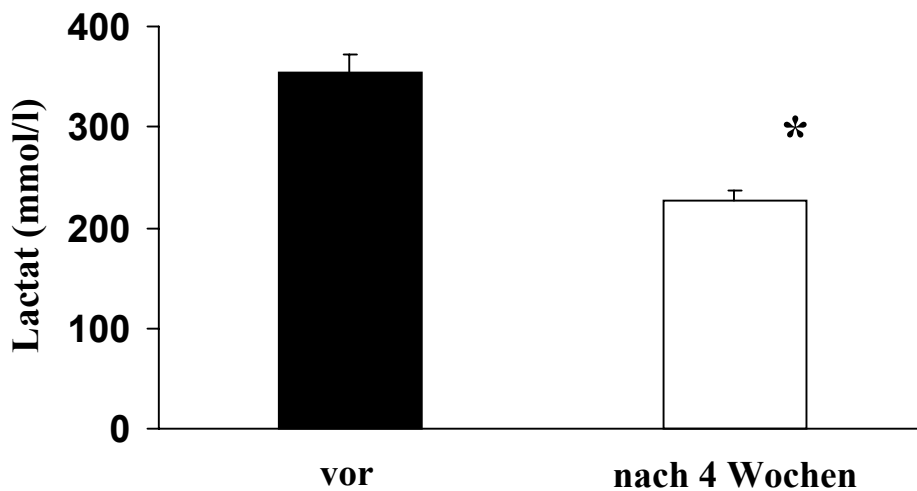


Abbildung 4b: ■ AUC für Lactat bei übergewichtigen Diabetikern vor Therapie
 □ AUC für Lactat bei übergewichtigen Diabetikern nach Therapie
 (* $P < 0.05$)

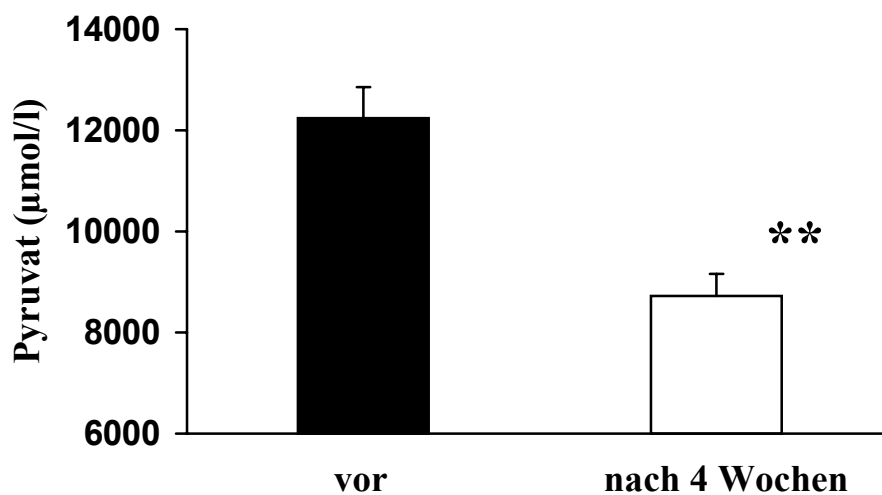


Abbildung 4c: ■ AUC für Pyruvat bei übergewichtigen Diabetikern vor Therapie
 □ AUC für Pyruvat bei übergewichtigen Diabetikern nach Therapie
 (** $P < 0.01$)

Abbildung 4 zeigt die Glucose (4a) AUC für Lactat (4b) nach FSICTT bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2 vor ■ und nach □ α -Liponsäuregabe über 4 Wochen.



Nach Therapie sind die basalen Glucosekonzentration zwar niedriger als vor der Therapie aber ohne signifikanz ($P=0.06$). Die AUC für lactat fallen im Vergleich zu vor der Therapie signifikant ab (255.3 ± 22.4 vs. 354.9 ± 34.5 mmol/l x min, * $P<0.05$).

Die AUC für Pyruvat nimmt auch unter α - Liponsäure Therapie deutlich ab (12242 ± 871 vs. 8723 ± 1069 μ mol/l x min, ** $P<0.01$).

4. Diskussion

4.1. Insulinresistenz und intrazelluläre Glucoseverwertungsstörung

Diverse Defekte und Fehlsteuerungen auf ganz unterschiedlichen Ebenen der Glucoseregulation können für die Pathogenese des Diabetes mellitus 2 verantwortlich sein. Der Diabetes mellitus 2 ist vor allem durch eine Insulinresistenz der Zielorgane allein oder in der Kombination mit einer Sekretionsstörung charakterisiert (Kolterman et al. 1981; De Fronzo et Ferrannini, 1982; Chen et al. 1982; De Fronzo 1988; Beck- Nielsen et al. 1992; 1995). Die Glucoseintoleranz und der manifeste Diabetes mellitus entwickeln sich durch Defekte auf der Ebene der β -Zellen, eine gestörte Insulinsekretion und Insulinresistenz, Störung der Glucoseaufnahme und -verwertung in der Leber, im Muskel und im Fettgewebe. Beim Diabetes mellitus 2 ist bisher noch nicht endgültig geklärt, ob die gestörte Insulinsekretion des Pankreas oder die Insulinresistenz des Muskels und der Leber der Primärdefekt ist. Trotzdem nimmt man an, dass beim normalgewichtigen Diabetiker primär hauptsächlich die Insulinsekretion gestört ist, während beim übergewichtigen Diabetiker primär die periphere und hepatische Insulinresistenz für die gestörte Glucosehomöostase verantwortlich sind (De Fronzo 1988). Die Interaktion zwischen Insulinsekretion und Insulinresistenz ist als eine dynamische, sich gegenseitig beeinflussende Beziehung zu

sehen, die zu einer erniedrigten Glucose-Clearance (Kolterman et al. 1981; De Fronzo et al. 1982; Chen et al. 1988; De Fronzo 1988; 1992) und einer reduzierten Unterdrückung der hepatischen Glucoseproduktion führt (Best et al. 1982; De Fronzo et al. 1982; Bogardus et al. 1984; Campbell et al. 1988), wodurch vor allem die Nüchternhyperglykämie begünstigt wird (De Fronzo 1988; Gerich et al. 1990). Eine erhöhte und durch Insulin vermindert hemmbare hepatische Glucoseproduktion beim Diabetes mellitus 2 führt schon früh zur Erhöhung des Nüchternglucosespiegels (De Fronzo et al. 1989; De Fronzo 1988; Consoli et al. 1990). Insulin ist normalerweise ein wirkungsvoller Suppressor der hepatischen Glucoseproduktion, so dass dieser Befund für eine Insulinresistenz der Leber spricht (Nurjhan et al. 1986; Campbell et al. 1988). Diese hepatische Dysregulation beim Diabetes mellitus 2 (Ahlgroth et al. 1976; Jahoor et al. 1990; Jenssen et al. 1990) führt zu einem erhöhten Substratangebot von Laktat, Pyruvat, Glycerol, Alanin und anderen glucohepatischen Aminosäuren und demzufolge zu einer erhöhten Gluconeogenese (Cherrington et al. 1986).

Eine Verminderung des insulinabhängigen Glucosetransportes und der Glucosephosphorylierung in der Skelettmuskulatur stellt die wesentliche Ursache für die Insulinresistenz bei Patienten mit Diabetes mellitus 2 dar (Bonnadonna et al. 1996; Kelley et al. 1996; Roden et al. 1996). In der Skelettmuskulatur der Patienten mit dem Diabetes mellitus 2 konnte allerdings eine reduzierte Glucosetransporterrate und nicht eine verminderte Expression des GLUT4 Transportproteins festgestellt werden (O' Rahilly et al. 1991).

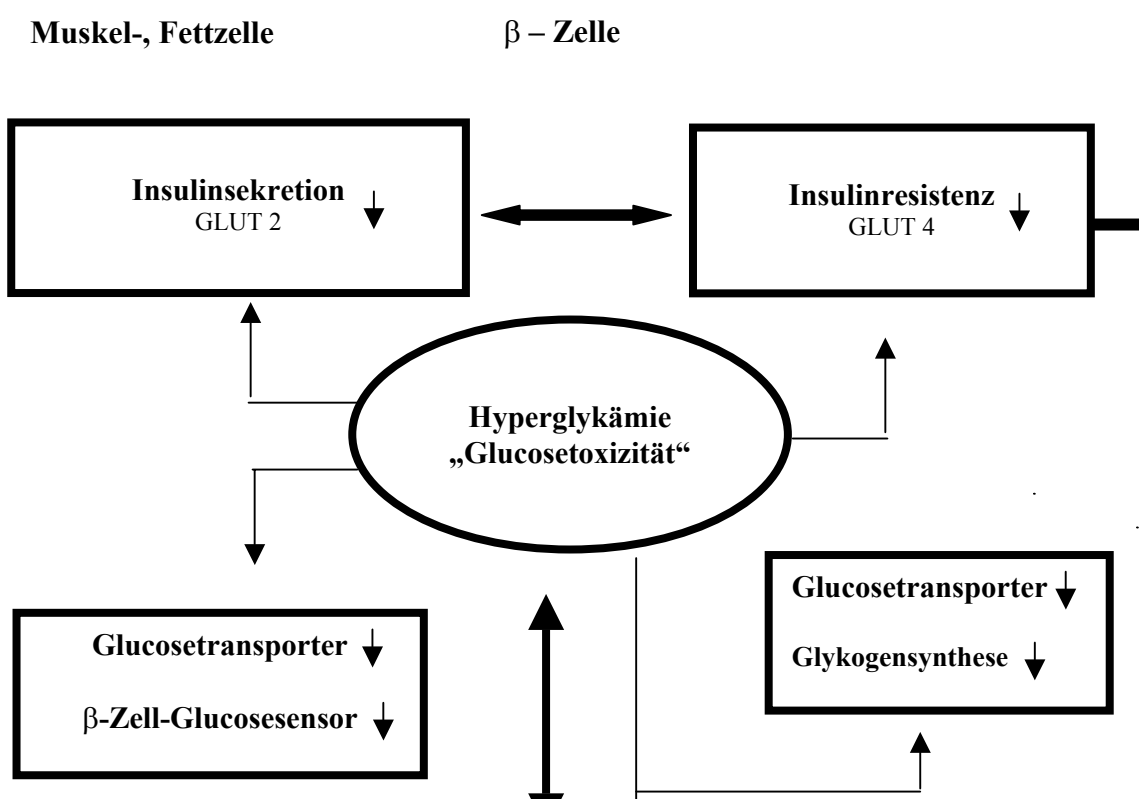


Abbildung 5: Schema der Interaktion von Insulinsekretion und Insulinresistenz über Hyperglykämie („Glucosetoxizitäts“-Hypothese der Diabetes mellitus 2 Pathogenese) (Robertson et al. 1991).

In eine kürzlich erschienene Studie haben Krebs et al. (2002) den Effekt der Aminosäuren auf die Insulinresistenz untersucht und konnten zeigen, dass ein höherer Aminosäurespiegel durch Hemmung des Glucosetransports und der Glucosephosphorylierung in der Skelettmuskulatur zu einer Insulinresistenz beiträgt.

In verschiedenen Studien konnte bei Patienten mit Diabetes mellitus 2 eine erhöhte Produktion von glucogenetischen Vorläufern, wie z. B. Lactat und Alanin, nachgewiesen werden (Consoli et al. 1990; Nurjhan et Consoli 1990; Vaag et al. 1992). Einige Untersuchungen zeigen einen signifikant höheren Einfluss der Skelettmuskulatur auf die Gesamt-Laktatproduktion (Capaldo et al. 1990; Consoli et al. 1990; 1992). Jedoch scheinen nicht nur der Skelettmuskel (Jackson et al. 1986; Yki-Jarvinen et al. 1990; Frayn et al. 1991; Avogaro et al. 1996) und andere Gewebe, wie z. B. Erythrozyten, Nervengewebe und Haut, bei der Lactatproduktion eine Rolle zu spielen (Groop et al. 1989). Möglicherweise ist auch das Fettgewebe eine Hauptquelle für die Produktion von Lactat (Frayn et al. 1989; Hagström et al. 1990; Jansson et al. 1990; 1994).

Nach Kohlenhydratzufuhr spielt die reduzierte Unterdrückung der hepatischen Glucoseproduktion eine wichtige Rolle beim Diabetiker (Firth et al. 1986; Ferrannini et al. 1988; McMahon et al. 1989; Mitrakou et al. 1990; Butler et al. 1991), d.h. auch im postprandialen Stadium scheint die erhöhte Gluconeogenese der Hauptmechanismus für die erhöhte hepatische Glucoseproduktion bei Patienten mit Diabetes mellitus 2 zu sein (McMahon et al. 1989; Nurjhan et al. 1990). Dazu kommen die Adipositas induzierte

Insulinresistenz mit der Insulinrezeptor-Downregulation und die Hyperglykämie induzierte Insulinresistenz mit Downregulation der Glucosetransporter („Glucose-Toxizität“). D.h. Hyperglykämie wird als zwangsläufige Folge von Insulinresistenz und abnormer Insulinsekretion aber auch als direkter Verursacher der Insulinresistenz und abnormer Insulinsekretion angesehen, wobei die β -Zellen die erhöhte Sekretionsrate, die aufgrund von Hyperglykämie und Insulinresistenz erforderlich wäre, nicht mehr aufrechterhalten können („ β -Zell-Erschöpfung“).

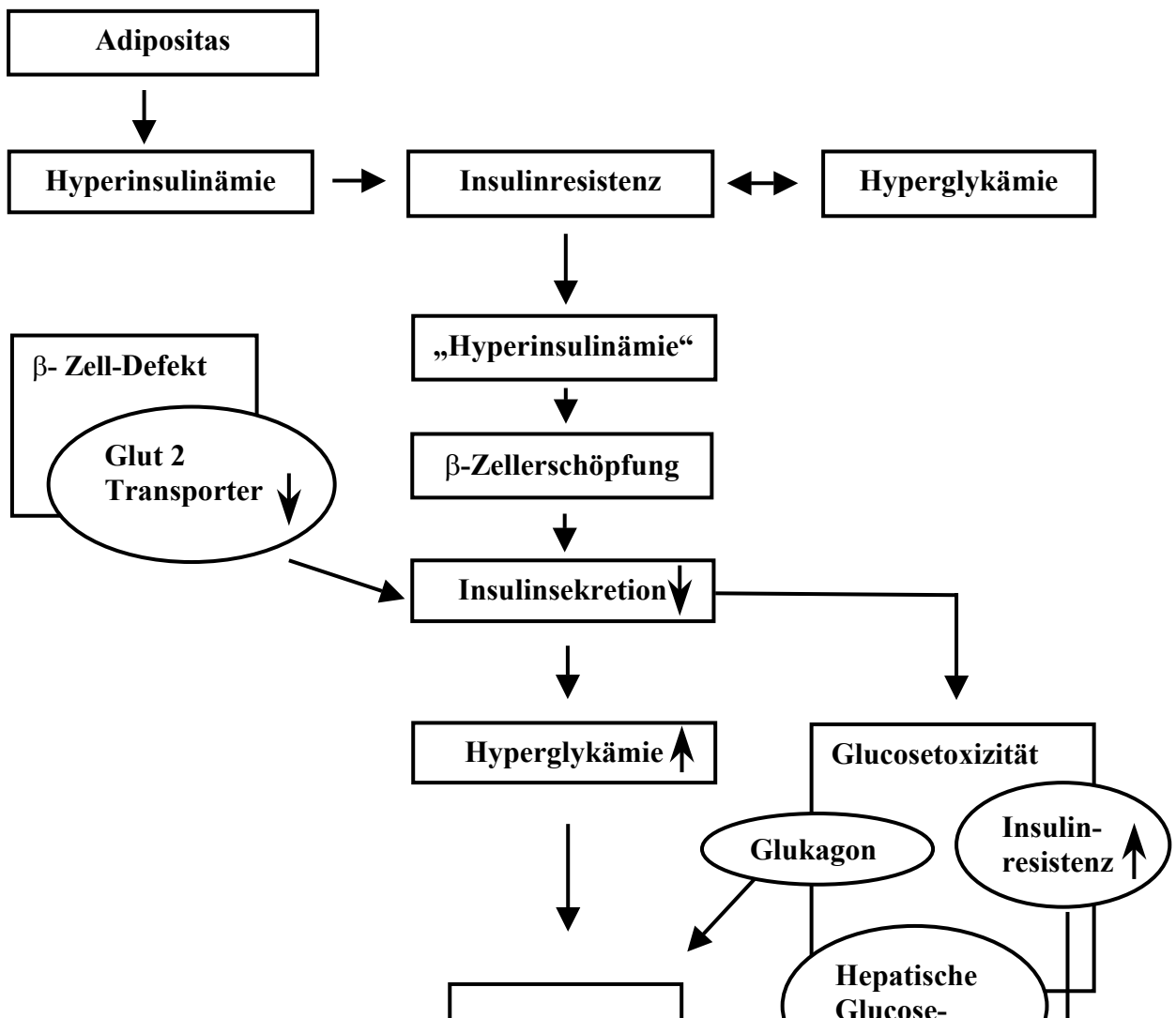


Abbildung 6: Hypothetisches Modell der interaktiven Pathogenese der Diabetes mellitus 2, ausgehend von Adipositas und β -Zell-Defekt (Robertson et al. 1991).

4.1.1. Intrazelluläre Glucoseverwertungsstörung und Mitochondriale Dysfunktion

Der relative bzw. absolute Insulinmangel bei Diabetes mellitus 2 führt zu einer verstärkten Lipolyse. Durch die Insulinmangellipolyse und verminderte Triglyceridsynthese steigt die Konzentration der freien Fettsäuren (FFA) an. Es werden in der Leber vermehrt Ketonkörper gebildet, die zusammen mit den erhöhten FFA-Konzentrationen wichtige Schlüsselenzyme der Glykolyse hemmen (Randle et al. 1963; 1988; Taegtmeyer et al. 1985). Die exzessive Oxidation von freien Fettsäuren bewirkt eine intrazelluläre Akkumulation von Acetyl-CoA und einen erhöhten NADH/NAD⁺-Quotienten, der zu einer Hemmung der PDH und des Krebszyklus führt (De Fronzo et al. 1988). Aus einer Abschwächung der PDH-Aktivität resultiert eine verminderte Oxidation von Pyruvat in Acetyl-CoA und eine erhöhte Umwandlung von Pyruvat in Lactat mittels Lactatdehydrogenase (Mondon et al. 1992).

Durch die Blockierung der mitochondrialen Enzyme wird die Glucosedurchsatzrate im Citratzyklus vermindert, was eine gestörte intrazelluläre Glucoseutilisation und verminderte Bildung von Adenosintriphosphat (ATP) zur Folge hat (Ehrenthal et al. 1985). Eine ATP-Verarmung hat für die Energie abhängigen Stoffwechselprozesse in den jeweiligen Organen und Geweben entsprechende Konsequenzen und begünstigt die Sauerstoff-Radikalbildung. An nicht-insulinsensitiven Geweben, wie z. B. dem peripheren Nervensystem, wird durch einen Mangel an ATP die Funktion der Natrium-Kalium-Pumpe (Na⁺-K⁺-ATPase) gestört, die zur Aufrechterhaltung und Wiederherstellung (Repolarisation) des Nervenpotentials von

essentieller Bedeutung ist. Zudem wird durch eine ATP-Verarmung der axonale Transport, der ebenfalls energieabhängig ist, beeinträchtigt. Der ATP-Mangel und Sauerstoff-Radikale beim Diabetes mellitus 2 führen somit sowohl am peripheren als auch am autonomen Nervensystem zur diabetischen Polyneuropathie, die sich nur in frühen Stadien noch erfolgreich therapeutisch beeinflussen lässt.

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden die Lactat- und Pyruvatkonzentrationen vor und nach Glucosebelastung bei normal- und übergewichtigen Kontrollpersonen und Patienten mit einer Diabetes mellitus 2 untersucht. Bereits die Nüchternkonzentrationen von Pyruvat und Lactat ändern sich in Abhängigkeit von dem Ausmaß der Veränderungen im Glucosestoffwechsel: die Pyruvatkonzentration ist am niedrigsten bei normalgewichtigen Kontrollpersonen und erreicht die Höchstkonzentrationen bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2, die durch eine schlechte Blutzuckereinstellung, hohe Nüchterntriglycerid- und Glucosekonzentrationen charakterisiert sind. In Bezug auf Pyruvat- und Lactat-Konzentrationen konnten wir ein ähnliches Ergebnis wie in der Arbeit von Höflich 1997 feststellen, wo diese Parameter bei den gleichen Patientenkollektiv mittels oralem Glucosebelastungstest (OGTT) mit 75 g Dextrose untersucht wurden. Die Parameter wurden in gleichen Zeitintervallen (0, 30, 60, 90, 120 Minuten) gemessen. Die hohen Lactat- und Pyruvat Spiegel in der übergewichtigen Kontrollgruppe weisen darauf hin, dass die Glucoseoxidation bereits bei normoglykämischen übergewichtigen Kontrollpersonen verändert ist. Als mögliche Ursache werden die bei übergewichtigen normoglykämischen Personen beobachteten erhöhten freien Fettsäuren angesehen, welche für die Hemmung der Pyruvatdehydrogenaseaktivität (Randle et al. 1963), Glucosetransport und -phosphorylierungsrate verantwortlich sind. (Krebs et al. 2001). Während sich unter intravenöser Glucosebelastung die Pyruvat- und Lactatkonzentrationen bei normoglykämischen Personen nur unwesentlich veränderten, stiegen diese Konzentrationen bei übergewichtigen diabetischen Patienten an. Übergewichtige Diabetiker haben eine erhöhte Glucoserecyclingrate (Zawadzki et al. 1988), d.h. dass persistierende hohe Glucosekonzentrationen und verzögerte Glucoseoxidation, eine Erhöhung von Lactat im Gewebe zu Folge haben.

Darüber hinaus ist die Lactatproduktion im Fettgewebe der übergewichtigen Diabetiker deutlich erhöht (Mondon et al. 1992; Lovejoy et al. 1992; Kreisberg et al. 1970). Das so im Gewebe gespeicherte Lactat wird nach einer Glucosebelastung freigesetzt, so dass die erhöhten Lactat Spiegel nach einer Glucosebelastung eine erhöhte intrazelluläre

Lactatspeicherung wiedergeben. Darüber hinaus ist bei übergewichtigen Diabetikern die Lipidoxidation deutlich erhöht, die durch Hemmung der Glucosetransport und -phosphorylierungsrate zu einer verminderten Glucoseoxidation führt. Höhere Lipidoxidation induziert die Sauerstoff-Radikalenbildung, die durch Membranschädigung für viele Folgeerkrankungen bei Diabetes mellitus 2 verantwortlich ist. Bei normalgewichtigen Diabetikern jedoch ist die Lipidoxidation nicht verändert, so dass eine verminderte Glucoseoxidation auf Grund einer erhöhten Lipidoxidation, ein solcher Defekt nicht erklären lässt (Golay et al. 1988).

Vergleicht man unsere Ergebnisse, mit denen in der Literatur beschriebenen Befunden, so scheint es einen Defekt in der Glucoseoxidation auch bei normalgewichtigen Diabetikern zu geben. Dieser Defekt kann weder durch Übergewicht, noch durch eine erhöhte Fettoxidation oder durch eine verminderte Glucoseaufnahme erklärt werden.

Bei normal- und übergewichtigen Kontrollpersonen ließ sich ein umgekehrtes Verhältnis zwischen der Insulinsensitivität und der Nüchtern-Lactatkonzentration feststellen, d.h., dass die Insulinsensitivität mit zunehmender Nüchternlactat abnimmt (Lovejoy et al. 1992). Bei Patienten mit einem Diabetes mellitus hingegen konnte eine solche Relation nicht festgestellt werden. Eine Erklärung hierfür ist wahrscheinlich der multiple Pathomechanismus des Diabetes mellitus.

4.1.2 Insulinsensitivitäts- und Glucoseeffektivität

Die von uns ermittelten SI-Werte waren vor der Therapie in beiden diabetischen Gruppen erniedrigt. In einer Studie von Kahn et al. (1993) wurde eine Wechselwirkung zwischen Adipositas und Insulinsensitivitätsabnahme bei gesunden und jungen Personen (Alter < 45 J) mit einem BMI von 19.5 - 52.2 kg/m² und Nüchtern-glucose-spiegeln < 6.4 mmol/l untersucht. Es wurde eine umgekehrt-proportionale Beziehung zwischen SI-Werten und BMI festgestellt, je kleiner der BMI, desto höher die SI. Ähnliche Kurvenverhältnisse haben sich im Vergleich der SI und β -Zell-Funktion, der SI und der Plasmainsulinkonzentration und der SI mit dem potentiellen Glucoseabbau ergeben. Die SI-Abnahme bei normalgewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2 zeigt, dass beim Diabetiker die SI nicht nur vom Gewicht, sondern von der Diabeteserkrankung an sich abhängt.

Unsere Studie bestätigt andere Studienergebnisse (Lovejoy et al. 1992), dass es eine umgekehrte Beziehung zwischen SI und basalem Lactatspiegel gibt, so dass eine Insulinresistenz mit einer Zunahme der Lactatkonzentration verbunden ist.

In dieser und anderen Studien (Henriksen et al. 1994) konnte ein signifikanter Unterschied der SG zwischen normalgewichtigen und übergewichtigen Diabetikern gefunden werden (Tab. 4). Die SG-Abnahme bei insulinresistenten übergewichtigen Diabetikern zeigt, dass die Fettleibigkeit ein höheres Risiko für die Entstehung von Diabetes mellitus darstellt, da die Fettleibigkeit zu einer Beeinträchtigung des Glucosestoffwechsels führt (Martin et al. 1992).

In anderen Untersuchungen war die SI bei den Kontrollpersonen von Fettleibigkeit und körperlicher Aktivität, die SG hingegen mehr vom Geschlecht abhängig (Clausen et al. 1996). Andere Studien haben über eine enge Beziehung zwischen SI und AUC für Lactat und zwischen SG und Lactat berichtet (Lovejoy et al. 1992; Watanabe et al. 1995).

Wir haben aber bei unserer Untersuchung keine Wechselwirkung zwischen diesen Parametern feststellen können. Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte am unterschiedlichen Patientenkollektiv liegen.

4.2. Einfluss von α -Liponsäure auf die Insulinsensitivität und Glucoseeffektivität im Nüchternzustand und unter Glucosebelastung

In dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, dass eine vierwöchige Behandlung mit α -Liponsäure sowohl bei normalgewichtigen als auch bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2 zu einer Verbesserung des Glucosestoffwechsels beiträgt (Abb. 3a-c, 4a-c). Bei normalgewichtigen Diabetikern verbesserte sich sowohl die insulin- als auch die glucoseabhängige Glucoseaufnahme. Niedrige Glucosekonzentrationen und ein verminderter Glucoseanstieg während der intravenösen Glucosebelastung in dieser Gruppe belegen die verbesserte Insulinsensitivität und Glucoseeffektivität.

Da die Nüchternhyperglykämie beim Diabetes mellitus 2 primär durch eine Stoffwechselfdysregulation im Bereich der Leber verursacht wird, (Consoli 1992) kann davon ausgegangen werden, dass α -Liponsäure im Nüchternzustand die hepatische Glykogenolyse anscheinend vermindert und damit die Nüchternblutzuckerwerte bei Patienten mit Diabetes mellitus 2 deutlich erniedrigt. Dieser Befund steht in Übereinstimmung mit tierexperimentellen Ergebnissen (Natraj et al. 1984; Gandhi et al.

1985), aus denen hervorgeht, dass α -Liponsäure den hepatischen Glucose-Stoffwechsel im Diabetes-Tiermodell deutlich verbessert.

α -Liponsäure scheint in experimentellen Daten (Waghert et al. 1990; Blumenthal et al. 1984) sowohl die hepatische Ketonkörperproduktion als auch die Gluconeogenese zu vermindern. Dies würde die erniedrigten Nüchternblutzuckerwerte, vor allem bei normalgewichtigen Diabetesgruppen erklären. Jacob et al.(1996) haben gezeigt, dass eine Therapie mit α -Liponsäure zu einer verbesserten Glucoseaufnahme über den nichtoxidativen und oxidativen Glucosestoffwechsel im Muskelgewebe von insulinresistenten Ratten führt. Die Verbesserung des Glucosestoffwechsels war mit einer Verminderung des Plasmainsulins und der freien Fettsäuren verbunden.

Andere Studien zeigen, dass α -Liponsäure zu einer Verbesserung des Glucosetransports in L6-Neofibrillen in An- und Abwesenheit von Insulin (Klip et al. 1994) und in den Muskelzellen in vitro (Bashan et al. 1993) und in vivo (Henriksen et al. 1995) führt. Loffelhardt et al.(1995) haben in ihren Untersuchungen bei diabetischen Ratten gezeigt, dass α -Liponsäure die Glucoseaufnahme und Glucoseutilisation verbessert und das myokardiale ATP-Niveau deutlich anhebt. Andererseits führt eine α -Liponsäuregabe bei diabetischen Ratten durch Hemmung der Glutation-Peroxidaseaktivität und Normalisierung der Superoxidantien-Produktion in der Aorta, zu einer Reduktion der Insulinresistenzentwicklung und der Hypertonie und zu einer Abnahme des oxidativen Stresses (El Midaue et al. 2002).

4.3. Einfluss der α -Liponsäure auf Lactat- und Pyruvatkonzentrationen

Die niedrigeren Pyruvatkonzentrationen während der α -Liponsäure-Behandlung, sowohl im Nüchternzustand als auch unter Glucosebelastung, weisen darauf hin, dass α -Liponsäure wahrscheinlich die aerobe Glucoseoxidation auf dem Niveau der mitochondrialen PDH stimuliert (Wagh et al. 1987). Das würde bedeuten, dass durch einen erhöhten Pyruvatumsatz vermehrt Pyruvat im Krebszyklus eingeschleust wird und dadurch zu einer Erhöhung der intrazellulären energiereichen Phosphate führen würde. Experimentelle Daten belegen diesen Mechanismus. So konnte gezeigt werden, dass α -Liponsäure die Glucoseaufnahme und die Glucoseverstoffwechslung in diabetischen Rattenherzen

verbessert (Loffelhardt et al. 1995). Diese Wirkungen waren von einer Erhöhung der intrazellulären Energieproduktion und einer Erhöhung der Herzleistung begleitet.

Es ist allerdings nicht geklärt, ob die α -Liponsäure nur auf der Ebene der Pyruvatdehydrogenase die Glucoseoxidation beeinflusst. Untersuchungen mit α -Liponsäure als auch mit der PDH-stimulierenden Substanz Dichloroacetat haben gezeigt, dass beide Substanzen die Glucosekonzentration in den diabetischen Rattenherzen verbessern. Darüber hinaus verminderte α -Liponsäure die Acetoacetat-Konzentrationen, das Dichloroacetat jedoch nicht, da die α -Liponsäure nicht nur die PDH stimuliert, sondern auch die Fettsäureoxidation und damit die Ketonkörperbildung reduziert (Wagh et al. 1987). Sing und Bowman (1970) haben unter α -Liponsäuretherapie eine erhöhte Phosphofruktokinaseaktivität und demzufolge eine höhere Glycolyse in der Rattenmuskulatur festgestellt.

Wir müssen einschränkend sagen, dass bei unseren Untersuchungen die Pyruvat- und Lactatkonzentrationen aus venösem Blut des Unterarmes gemessen wurden, so dass der genaue Ursprung dieser Metaboliten nicht festgestellt werden kann. Nähere Befunde von Avogaro et al. weisen allerdings darauf hin, dass die Interkonvention zwischen Lactat und Pyruvat intrazellulär im Unterarm von Patienten mit Diabetes mellitus erhöht ist. Deshalb kann man vermuten, dass die von uns gemessenen erhöhten Pyruvat- und Lactatkonzentrationen aus diesem Gewebe stammen. Die Autoren führen diese erhöhte Interkonventionen auf eine verminderte Pyruvat-Degradation bei Diabetikern zurück, die wahrscheinlich auf einem Defekt der Pyruvatdehydrogenase beruht. Als Begründung weisen die Autoren darauf hin, dass die Rate der Pyruvatoxidation in erster Linie durch die Aktivierung der Pyruvatdehydrogenase bestimmt wird (Avogro et al. 1996; Randle et al. 1988). Eine Verminderung der PDH-Aktivität würde deshalb zu einer verminderten Oxidation von Pyruvat zu Acetyl-CoA führen und das wiederum zu einer vermehrten Konversion von Lactat und Pyruvat über die Pyruvatdehydrogenase beitragen und konsekutiv zu einem erhöhtem Lactatspiegel im Blut führen.

Die Metaboliten des Glucosestoffwechsels (Lactat, Pyruvat und Alanin) stammen in erster Linie aus dem Abbau des Glykogens im Muskelgewebe (Consoli et al. 1992). Bei erhöhten Konzentrationen werden sie im Muskel abgegeben und in der Leber im Rahmen der Gluconeogenese zu Glucose verstoffwechselt. Dieser als „Cori“- Zyklus beschriebene physiologische Ablauf ist vor allem bei übergewichtigen Diabetikern deutlich erhöht (Zawadzki et al. 1988). Die Gabe von α -Liponsäure scheint also bei Patienten mit Diabetes

mellitus 2 die intrazelluläre Glucoseverstoffwechslung im Fett-, Muskel- und im Lebergewebe günstig zu beeinflussen, so dass sowohl verminderte Glucosekonzentrationen im Nüchternzustand als auch verminderte Laktat- und Pyruvatanstiege nach Glucosebelastung im Serum dieser Patienten zu messen sind. Vermutlich stimuliert α -Liponsäure die aerobe Glucoseoxidation auf mitochondrialer Ebene durch PDH-Aktivierung. Die Abnahme der Pyruvatkonzentration nach α -Liponsäuretherapie lässt vermuten, dass Pyruvat in den Zitratzyklus eintritt und zu einer Steigerung des intrazellulären energiereichen Phosphats beiträgt. Barbioli et al. (1995) konnten demonstrieren, dass α -Liponsäure zu einer erhöhten Energieverfügbarkeit im Gehirn und der Muskulatur führt (Haugaad et al. 1970; Jacob et al. 1996). Es bleibt umstritten, ob die Wirkung von α -Liponsäure auf Pyruvat und Lactat nur durch Interaktion mit PDH zustande kommt. Diese Interaktion führt zu einer erhöhten Verschiebung von Lactat zum Kohlendioxid und führt dadurch zu einer Abnahme des Substrates für die Gluconeogenese in der Leber und damit nach der Therapie zu einer niedrigeren Pyruvat-, Lactat- und Glucosekonzentration im Nüchternzustand.

Zusammenfassung

In dieser klinischen Studie wurden 10 normalgewichtige und 10 übergewichtige Patienten mit Diabetes mellitus 2 und einer unbehandelten diabetischen Polyneuropathie über vier Wochen mit α -Liponsäure 1200 mg/die per os behandelt.

Vor und nach der Therapie wurde ein intravenöser Glucosebelastungstest bei jedem Patienten durchgeführt und die ermittelten Glucose-, Insulin-, Pyruvat- und Lactatspiegel mit einer Kontrollgruppe (10 normalgewichtige und 10 übergewichtige normoglykämische

Kontrollpersonen) verglichen. Die SI und SG Werte wurden mit Hilfe der Minimal-modeling Technik ermittelt.

In dieser Studie wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Die SI- und SG-Werte waren bei der normalgewichtigen Kontrollgruppe höher als bei den übergewichtigen Kontrollpersonen.
2. Die SI und SG waren bei beiden diabetischen Gruppen verglichen mit den Kontrollgruppen vermindert.
3. Die SI-Verminderung in beiden diabetischen Gruppen deutet auf eine primäre Insulinresistenz hin, die für die Entwicklung der Erkrankung entscheidend ist.
4. Bei den Kontrollgruppen waren die Nüchternpyruvatspiegel bei den Übergewichtigen höher als bei den Normalgewichtigen, wobei die Steigerung der Lactat- und Pyruvatspiegel und damit die errechnete AUC für Pyruvat und Lactat unter dem Glucosebelastungstest keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen zeigte.
5. Die Nüchternlactatspiegel waren sowohl bei normal- als auch bei übergewichtigen Patienten mit Diabetes mellitus 2, verglichen mit der jeweiligen Kontrollgruppe, deutlich erhöht. Die Nüchternpyruvatspiegel waren bei übergewichtigen Diabetikern jedoch deutlich höher als bei normalgewichtigen Diabetikern.
6. Die deutlich erhöhten Lactat- und Pyruvatspiegel im Nüchternzustand bei diabetischen Patienten weisen auf eine beeinträchtigte basale Glucoseoxidation hin.
7. Unter intravenöser Glucosebelastung stiegen die Pyruvatspiegel stärker als die Lactatspiegel an und waren vor allem bei übergewichtigen Diabetikern deutlich erhöht. Dieser starke Anstieg belegt die verminderte Glucoseoxidation bei Diabetikern.
8. Die vierwöchige α -Liponsäuretherapie verbessert signifikant die SG sowohl bei normalgewichtigen- (** $P < 0.01$) als auch bei übergewichtigen Diabetikern (* $P < 0.05$). Der Therapieeffekt von α -Liponsäure auf die SI war bei normalgewichtigen Patienten deutlich höher als bei übergewichtigen Patienten. Der SG- und SI-Effekt auf die Glucose-Wiederaufbaurrate war nach der Therapie verbessert.
9. Bei normalgewichtigen Patienten führte eine vierwöchige α -Liponsäuretherapie zu einer verbesserten Glucoseverstoffwechslung. Der weniger ausgeprägte Therapieeffekt von α -Liponsäure bei übergewichtigen Diabetikern mag wohl auf der Schwere der Stoffwechselentgleisung in dieser Patientengruppe beruhen.

10. α -Liponsäure führte zu einer deutlichen Abnahme der AUC für Pyruvat und Lactat in beiden Gruppen. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass α -Liponsäure wahrscheinlich über eine Stimulation auf dem Niveau des Pyruvat-Dehydrogenasekomplexes wirkt. α -Liponsäure scheint also sowohl im Nüchternzustand als auch unter Glucosebelastung die Glucoseoxidation bzw. den Pyruvatmetabolismus zu verbessern.

Bei Patienten mit Diabetes mellitus 2 ist die Glucoseabbaurate durch eine verminderte aerobe und anaerobe Glucoseoxidation gehemmt. Grund dafür ist wahrscheinlich eine PDH Aktivitätsabnahme. Die ständige Hyperglycämie führt zu einer Zunahme der Pyruvat- und Lactatkonzentration und einer Abnahme der SI und SG.

Die orale Einnahme von α -Liponsäure beschleunigt anscheinend den intrazellulären Glucosemetabolismus durch Stimulation der PDH und erhöht das intrazelluläre Redoxpotential. Es kommt dadurch wahrscheinlich zu einer Verbesserung der Energiegewinnung aus Phosphaten und mobilisiert den Glucosetransporter, wodurch sich der Glucosetransport in die Muskelgewebe verbessert. Damit führt α -Liponsäure zu einer verbesserten Glucoseutilisation bei Patienten mit Diabetes mellitus 2.

6. Abstract

Influence of α -Lipoic Acid on insulin sensitivity and glucose effectiveness of patients with type 2 Diabetes- an investigation with the minimal modelling analysis

Objective

We examined the effect of lipoic acid (LA), a cofactor of the pyruvate dehydrogenase complex (PDH), on insulin sensitivity (SI) and glucose effectiveness (SG) and on serum lactate and pyruvate levels after modified frequently sampled intravenous glucose tolerance tests (FSIGTTs) in lean (n=10) and obese (n=10) patients with type 2 diabetes

Research design and methods

FSIGTT data were analyzed by minimal modelling technique to determine SI and SG before and after oral treatment (600 mg, twice a day, for 4 weeks). Serum lactate and pyruvate levels of diabetic patients after glucose loading were compared with those of lean (n=10) and obese (n=10) healthy control subjects in which SI and SG were also determined from FSIGTT data.

Results

Fasting lactate and pyruvate levels were significantly increased in patients with type 2 diabetes. These metabolites did not exceed elevated fasting concentrations after glucose loading in lean patients with type 2 diabetes. However, a twofold increase of lactate and pyruvate levels was measured in obese diabetic patients. LA treatment was associated with increased SG in both diabetic groups (lean 1.28 ± 0.14 to 1.93 ± 0.13 ; obese 1.07 ± 0.11 to $1.53 \pm 0.08 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$, * $P < 0.05$). Higher SI and lower fasting glucose were measured in lean diabetic patients only (* $P < 0.05$). Lactate and pyruvate concentration before and after glucose loading were ~ 45% lower in lean and obese diabetic patients after LA treatment.

Area under the curve (AUC) of lactate after intravenous glucose loading decreased in both groups under LA treatment (in lean diabetic patients, 272.9 ± 19 vs. 226.4 ± 18 mmol/l x min after LA, $P = 0.08$, in obese diabetic patients, 354.9 ± 34.5 vs. 255.3 ± 22.4 mmol/l x min, * $P < 0.05$). LA treatment was also associated with a decrease of AUC pyruvate from 11.021 ± 669 to 7.921 ± 624 $\mu\text{mol/l x min}$ (** $P < 0.01$) in lean patients and from 12.242 ± 871 to 8.723 ± 1.069 $\mu\text{mol/l x min}$ (** $P < 0.01$) in obese patients with type 2 diabetes.

Conclusions

Treatment of lean and obese diabetic patients with LA prevents hyperglycemia- induced increments of serum lactate and pyruvate levels and increases SG and SI. Orale treatment with LA seems to improve intracellular glucose utilisation probably by stimulating PDH, and increases glucose-mediated glucose disposal in patienten with typ 2 diabetes.

7. Literaturverzeichnis

Ahlog G., Hagenfeldt L., Wahren J.: Influence of lactate infusion on glucose and FFA metabolism in man. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 36 (1976) 193- 201

Avogaro A., Toffolo G., Miola M., Valerio A., Tiengo A., Cobeli C., Del Prato S.: Intracellular Lactate- and pyruvate-interconversion rates are increased in muscle tissue of noninsulin-dependent diabetic individuals. *J. Clin. Invest.* 98 (N.1) (1996) 108-115

Barbiroli B., Medorie R., Tritschler HJ., Klopstock T., Seibel P., Reichmann H., Lotti S., Lodi R., Zanolli P.: Lipoic (Thioctic) acid increases brain energy availability and skeletal muscle performance as shown by in vivo 31 P-MRS in a patient with mitochondrial cytopathy. *J. Neurol.* 242 (1995) 472-477

Baron DA., Kolterman GO., Bell J., Mandarino LJ., Olefsky JM.: Rates of noninsulin-mediated glucose uptake are elevated in type 2 diabetic subjects. *J. Clin. Invest.* 76 (1985) 1782-1788

Bashan N., Burdett E., Guma A., Klip A.: Effect of thioctic acid on glucose transport. Aus Gries/Wiesel: Thioctsäure: Stellenwert von Antioxidantien beim Diabetes mellitus. *Pmi Verlag, Frankfurt* (1993) 218-226

Basu A., Caumo A., Bettini F., Gelisio A., Alzaid A., Cobeli C., Rizza AR.: Impaired basal glucose effectiveness in NIDDM. *Diabetes* 46 (1997) 421-432

Baynes JW.: Role of oxidative stress in development of complication in diabetes. *Diabetes* 40 (1991) 405-41

Bergman RN.: Toward physiological understanding of glucose tolerance. A minimal-model approach. *Lilly Lecture* (1989) *Diabetes* 38 (1989) 1512-1527

Bergman RN., Bucolo RJ.: Interaction of insulin and glucose in the control of hepatic glucose balance. *Am. J. Physiol.* (1974) 1314-1322

Bergman RN., Phillips LS., Cobeli C.: Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man. *J. Clin. Invest.* (1981) 1456-1467

Beck-Nielsen H., Henriksen JE., Vaag A., Hother-Nielsen O.: Pathophysiology of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Diab. Rese. Clin. Prac.* 28 (1995) 13-15

Beck-Nielsen H., Vaag A., Damsbo P., Handberg A., Nielsen OH., Henriksen JE., Ronn P.:

Insulin resistance in skeletal muscles in patients with NIDDM. *Diabetes Care* 15 (1992) 418-429

Best JD., Taborsky GJ. Jr., Halter JB., Porte D. Jr.: Glucose disposal is not proportional to plasma glucose level in man. *Diabetes* 30 (1981) 847-850

Best JD., Judzewitsch R., Beard J., Halter JB., Porte D.: The effect of chronic sulfonylurea therapy on hepatic glucose production in noninsulin-dependent diabetes. *Diabetes* 31 (1982) 333-338

Bischoff A.: Ultrastructural pathology of peripheral nervous system in early diabetes. In: Camerini-davalos RA. Cole HS. (eds): Vascular and neurological changes in early diabetes. *Academic Press. New York* (1973) 441-449

Blumenthal SA.: Inhibition of gluconeogenesis in rat liver by lipoic acid. Evidence for more than one site of action. *Biochem. J.* (1984) 773-780

Bock E., Schneeweiß J.: Ein Beitrag zur Therapie der Neuropathia Diabetica. *Münch. med. Wsch.* 101 (1959) 1911-1912

Böhm M., Ebelin M., Bisswanger H.: Neue Erkenntnisse über die Funktionen von α -Liponsäure in mitochondrialen Multienzym-Komplexen. Aus Borbe/ Ulrich: Thioctsäure: Neue biochemische pharmakologische und klinische Erkenntnisse zur Thioctsäure. *PMI-Verlag, Frankfurt* (1989) 44-56

Bogardus C., Lilioja S., Howard B., Reaven G., Mott D.: Relationship between insulin secretion, insulin action and fasting plasma glucose concentration in nondiabetic and noninsulin-dependent diabetic subjects. *J. Clin. Invest.* 74 (1984) 1238-1246

Bonadonna CR., Del Prato S., Bonora E., Saccomani MP., Gulli G., Natali A., Fraserra S., Pecori N., Ferrannini E., Bier D.: Roles of glucose transport and glucose phosphorylation in muscle insulin resistance in NIDDM. *Diabetes* 45 (1996) 915-925

Bullock MW., Brockman JA. Jr., Patterson EL., Pierce JV., Stokstad ELR.: Synthesis of compounds in the thioctic acid series. *J. Am. Chem. Soc.* 74 (1952) 3455

Butler P., Rizza R.: Contribution to postprandial hyperglycemia and effect on initial splanchnic glucose clearance of hepatic glucose cycling in glucoseintolerant or NIDDM patients. *Diabetes* 40 (1991) 73-81

Campbell P., Mandarino L., Gerich J.: Quantification of the relative impairment in actions of insulin on hepatic glucose production and peripheral glucose up-take in noninsulin dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 37 (1988) 15-22

Capaldo B., Napoli R., DiBonito P., Albenop G., Sacca L.: Glucose and Gluconeogenic substrate exchange by the forearm skeletal muscle in hyperglycemic and insulin-treated type II diabetic patients. *J. Clin. Invest.* 71 (1990) 1220-1223

Chen YD., Jeng CY., Hollenbeck C., Wu MS., Reaven G.: Relationship between plasma glucose and insulin concentration, glucose production and glucose disposal in normal subjects and patients with noninsulin-dependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 82 (1988) 21-25

Cherrington A., Vranic M.: Hormonal control of gluconeogenesis in vivo. *aus: Kraus-Friedman, Hormonal Control of Gluconeogenesis, Boca Raton, FL, (1986) p.15-37*

Clausen OJ., Borch-Jonson K., Ibsen H., Bergmann RN., Haugaard P., Winter K., Pedersen O.: Insulinsensitivity index, acute insulin response, and glucose effectiveness in a population-based sample of 380 young healthy Caucasians. *J. Clin. Invest.* 98 (1996) 1195-1209

Consoli A., Nurjhan N., Reilly J., Bier D., Gerich J.: Mechanism of increased gluconeogenesis in noninsulin-dependent diabetes mellitus: role of alteration in systemic, hepatic and muscle lactate and alanine metabolism. *J. Clin. Invest.* 86 (1990) 2038-2045

Consoli A.: Role of liver in pathophysiology of NIDDM. *Diabetes Care* 15(3) (1992) 430-441

Coates PA., Ollerton LR., Luzio DS., Ismail IS., Owens DR.: Reduced sampling protocol in estimation of insulin sensitivity and glucose effectiveness using the minimal model in NIDDM. *Diabetes* 42 (1994) 1635-1641

Czok R., Lamprecht W.: aus Bergmeyer H.U. (Hrsg.) Methoden der enzymatischen Analyse. 3. Auflage, (Band II), Verlag Chemie, Weinheim (1974) 1491

De Fronzo RA., Bonadonna RC., Ferrannini E.: Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetologia* 35 (1992) 318-367, 389-397

De Fronzo RA., Ferrannini E.: Influence of plasma glucose and insulin concentration on plasma glucose clearance in man. *Diabetes* 31 (1982) 683-688

De Fronzo RA.: The Triumvirate: β -cell, muscle, liver. A collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 37 (1988) 667- 687

Ehrenthal W., Prellwitz W.: Biochemie und Pharmakologie der α - Liponsäure. aus Neundörfer/Sailer: Interdisziplinäre Bestandaufnahme der Polyneuropathien, Perimed Verlag, Erlangen (1985) 154-166

El Midaoui A., Champlain J.: Prevention of hypertension, insulin resistance and oxidative stress by alpha-lipoic acid. *Hypertension* 39(2) (2002) 303-307

Forth W., Henschler D., Rummel W.: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. Wissenschaftsverlag, 4. Auflage (1983) 57-59

Frayn K., Coppak S., Humphreys S., Whyte P.: Metabolic characteristics of human adipose tissue in vivo. *Clin. Sci.* 76 (1989) 509-519

Frany K., Coppack S., Humphreys S.: Glycerol and lactate uptake in human forearm. *metabolism* 40 (1991) 1317-1319

Ferranini E., Simonson D., Katz L., Reichard G., Bevilacqua S., Barret E., Olssen M., De Fronzo RA.: The disposal of an oral glucose load in patients with non-insulin-dependent diabetes. *Metabolism* 47 (1988) 79-85

Galante P., Mosthaf L., Keller M., Berti L., Tippmer S., Bossenmaier B., Fujiwara T., Horikoshi H., Haring HU.: Acute hyperglycemia provides an insulin-independent inducer for GLUT₄ translocation in C₂ C₁₂ myotubes and rat skeletal muscle. *Diabetes* 44 (1995) 646- 651

Gandhi VM., Wagh SS., Natraj CV., Menon KKG.: Lipoic acid and diabetes II: Mode of action of lipoic acid. *J. Boisci.* 9(1-2) (1985) 117-127

Gerich J., Mitrakou A., Kelley D., Mandarino L., Nurjahn N., Reilly J., Jenssen T., Veneman T., Cinsoli A.: Contribution of impaired muscle glucose clearance to reduced postabsorptive systemic glucose clearance in NIDDM. *Diabetes* 39 (1990) 211-216

Golay A., De Fronzo RA., Ferrannini E., Simonson DC., Thorin D., Acheson K., Thiebaud D., Curchod B., Jequier E., Felber JP.: Oxidative and nonoxidative glucose metabolism in non-obese typ 2 (non –insulin- dependent) diabetic patients. *Diabetologia* 31 (1988) 585-591

Greene DA., Sima AAF., Stevens MJ., Feldman EL., Lattimer SA.: Complication: Neuropathy, pathogenetic considerations. *Diabetes Care* 15 (1992) 1902-1925

Groop LC., Bonnadonna RC., Del Prato S., Ratheiser K., Zyck K., Ferrannini E., De Fronzo RA.: Glucose and free fatty acid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus: evidence for multiple sites of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 84 (1989) 205-213

Hagström E., Arner P., Ungerstedt U., Bolinder J.: Subcutaneous adipose tissue: a source of lactate production after glucose in humans. *Am. J. Physiol.* 258 (1990) E888-E893

Haugaard N., Haugaard ES.: Stimulation of glucose utilization by thioctic acid in rat diaphragm incubated in vitro. *Biochim. Biophys. Acta.* 222 (1970) 583-586

Hayden MA. : The biosynthesis of lipoic acid. *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 9512-9515

Henriksen JE., Alford F., Handberg A., Vaag A., Ward GM., Kalfas A., Beck-Nielsen H.: Increased glucose effectiveness in normoglycemic but insulin-resistant relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 94 (1994) 1196-1204

Henriksen EJ., Jacob S., Streeper RS., Hokama JY., Wessel K., Tritschler HJ., Augustin HJ., Dietze GJ.: Chronische Behandlung mit Thioctsäure verbessert die Insulinresistenz und der muskulären Glucoseverwertung der fetten Zucker-Ratte (Abstr.). *Diabetes & Stoffw.* 4 (Suppl.) (1995) 156-157

Henry RR., Thorburn AW., Beerdsen P., Gumbiner B.: Dose-response characteristics of impaired glucose oxidation in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Physiol.* 261 (1991) 132-140

Höflich A.: Einfluß von α -Liponsäure auf die Serum-Laktat- und -Pyruvatkonzentrationen bei Patienten mit nichtinsulinpflichtigem Diabetes mellitus. (1997) (Dissertationsschrift)

Jackson R., Roshania R., Hawa m., Sim B., Disilvo L: Impact of glucose ingestion on hepatic and peripheral glucose metabolism in man: an analysis based on simultaneous use of the forearm and double isotope techniques. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 63 (1996) 541-549

Jacob S., Henriksen EJ., Schiemann AL., Simon I., Clancy DE., Tritschler HJ., Jung WI., Augustin HJ., Dietze GJ.: Enhancement of glucose-disposal in patients with type 2 diabetes by α -lipoic acid. *Drug research* 45 (11) (1995) 872-874

Jacob S., Streeper SR., Fogt LD., Hokama YJ., Tritschler JH., Ditze JG., Jung WI., Henriksen JE.: The antioxidant α -lipoic acid enhances insulin stimulated glucose metabolism in insulin-resistance rat skeletal muscle. *Diabetes* 45 (1996) 1024-1029

Jacob S., Henriksen EJ., Tritschler HJ., Agustin HJ., Ditze GJ.: Improvement of insulin mediated glucose disposal in Typ 2 diabetes after repeated parenteral administration of thioctic acid . *Exp. Clin. Endocrinol. diabetes* 104 (1996) 284-288

Jahoor F., Peters E., Wolfe R.: The relationship between gluconeogenic substrate and glucose production in humans. *Am. J. Physiol.* 258 (1990) E288-E296

Jansson PA., Smith U., Lönnroth P.: Evidence for lactate production by human adipose tissue in vivo. *Diabetologia* 33 (1990) 253-256

Jenssen T., Nurjhan N., Consoli A., Gerich J.: Failure of substrate-induced gluconeogenesis to increase overall glucose appearance in normal humans. Demonstration of hepatic autoregulation without a change in plasma glucose concentrations. *J. Clin. Invest.* 86 (1990) 489- 497

Kahn SE., Prigeon RL., Mcculloch DK., Boyko EJ., Bergman RN., Schwarz MW., Neifing JI.: Quantification of the relationship between insulin sensitivity and β -cell function in human subjects. Evidence for a hyperbolic function. *Diabetes Vol.* 42 (1993) 1663-1672

Kelley D., Mandarino LJ.: Hyperglycemia normalizes insulin-stimulated skeletal muscle glucose oxidation and storage in noninsulin- dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 86 (1990) 1999-2007

Kelley D., Mintun M., Watkins S., Simoneau JA., Jadall F., Fredrickson A., Beattie J., Theriault R.: The effect of noninsulin-dependent diabetes mellitus and obesity on glucose transport and phosphorylation in skeletal muscle. *J. Clin. Invest.* 97 (N.12) (1996) 2705-2713

Klip A., Volchuk A., Ramlal T., Ackerley C., Mitsumoto Y.: Glucosetransports of muscle cells in culture. Development regulation and modulation by lipoic acid, an anti-hyperglycemic agent. Aus Draznin B./ Le Roith D. *Molecular Biology of diabetes, Humana Press* (1994) 511-528

Kolterman O., Gary R., Griffin J., Burstein P., Insel J., Scarlett J., Olefsky J.: Receptor and postreceptor defects contribute to the insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 68 (1981) 957-969

Krebs M., Krssak M., Bernroider E., Anderwald CH., Brehm A., Meyerspeer M., Nowotny P., Roth E., Waldhäusel W., Roden M.: Mechanism of amino acid-induced skeletal muscle insulin resistance in humans. *Diabetes* 51 (2002) 599-605

Krebs M., Krssak M., Nowotny P., Weghuber D., Gruber S., Mlynarik V., Bischof M., Stingl H., Fornsinn C., Waldhäusel W., Roden M.: Free fatty acids inhibit the glucose-stimulated increase of intramuscular glucose-6-phosphate concentration in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (5) (2001) 2153-2160

Kreisberg RA., Pennington LF., Boshell BR.: Lactate turnover and gluconeogenesis in normal and obese human: effect of starvation. *Diabetes* 19 (1970) 53-63

Kruse-Jarres J., Reinauer H.: Pathobiochemie und klinisch-chemische Diagnostik der Stoffwechselerkrankungen. aus: Greiling H., Gressner M.(Hrsg.): Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie. *Schattauer, Stuttgart/New York* (1995) 248-343

Kusari J., Verma US., Buse JB., Henry RR., Olefsky JM.: Analysis of the gene sequences of the insulin receptor and the insulin-sensitive glucosetransporter (GLUT₁) in patients with common-typ non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 88 (1991) 1323

Linnemann M., Kühl M.: Biochemie für Mediziner: Die Enzyme der oxidativen Decarboxylierung. 5. Auflage (1999) 289-290

Löffelhardt S., Bonaventura C., Locher M., Borbe HO., Bisswanger H.: Interaction of α -lipoic acid enantiomers and homologues with the enzyme components of the mammalian pyruvate dehydrogenase complex. *Biochem. Pharmacol.* 50 (1995) 637-646

Lovejoy J., Newby FD., Gebhart SSP., Di Girolamo M.: Insulin resistance in obesity is associated with elevated basal lactate levels and diminished lactate appearance after intravenous glucose and intravenous glucose and insulin. *Metabolism* 41 (1992) 22-27

Mandarino LJ., Consoli A., Kelly DE., Reilly JJ., Nurchan N.: Fasting hyperglycemia normalizes oxidative and nonoxidative pathways of insulin-stimulated glucose metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 71 (1990) 1544-1551

Marquardt DW.: An algorithm for least squares estimation of nonlinear parameters. *J. Soc. Ind. Appl. Math.* 11 (1963) 431-441

Martin CB., Warram HJ., Krolewski SA.: Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus : results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 340 (1992) 925-929

Mehnert H., Schöffling K., Standl E., Usadel KH.: Diabetologie in Klinik und Praxis. *Georg Thieme Verlag Stuttgart. New York* 3. Neubearbeitete Auflage (1994) 50-73

Meyer HV., Curchod B., Pahud P., Jequier E., Felber JP.: Modifications of glucose storage and oxidation measured by continuous calorimetry. *Diabetes* 30 (1980) 752-756

MCMahon M., Marsh H., Rizza R.: Effects of basal insulin supplementation on disposition of a mixed meal in obese patients with NIDDM. *Diabetes* 38 (1989) 291-303

Mitrakou A., Kelly D., Veneman T., Jenssen T., Pangburn T., Reilly J., Gerich J.: Contribution of abnormal muscle and liver glucose metabolism in Postprandial Hyperglycemia in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes* 39 (1990) 1381- 1390

Mondon CE., Jones RI., Azhar S., Hollenbeck CB., Reaven GM.: Lactate production and pyruvate dehydrogenase activity in fat skeletal muscle from diabetic rats. *Diabetes* 41 (1992) 1547-1554

Nagamatsu M., Nickander KK., Schmelzer JD., Raya A., Wittrock D., Tritschler H., Low PA.: Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 18 (1995) 1160-1167

Natraj CV., Gandhi VM ., Menon KKG.: Lipoic acid and diabetes: Effect of dihydrolipoic acid administration in diabetic rats and rabbits. *J. Biosci. 6 (1) (1984) 37-46*

Nurjhan N., Champbell P., Kennedy F., miles J., gerich J.: Insulin dose-response characteristics for suppression of glycerol release and conversion to glucose in humans. *Diabetes 35 (1986) 1326- 1331*

Nurjhan N., Consoli A.: Evidence that intrahepatic mechanism are primarily responsible for increased gluconeogenesis in noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) (Abstr.). *Diabetes 39 (1990) (Suppl.1) 4A*

O`Rahilly S., Choi WH., Morgan R.: Detection of mutations in candidate genes in typ 2 (non- insulin- dependent) diabetic patients by analysis of single stranded conformation polymorphisms. *Diabetologia 34(1991) A71 (Abstract)*

Pacini G., Bergman RN.: MINMOD: a computer programm to calculate insulin sensivity and pancreatic responsivity form the FSIGTT. *Department of physiology and Biophysics, university of Southern California School of medicine, Los Angeles USA and Istituto per Ricerche di Dinamica die Sistemi e di Bioingegneria (LADSEB-CNR) ,Padova, Italy*
Computer Methods and Programs in Biomedicine 23 (1986) 113-122

Pirart J.: Diabetes mellitus and its degenerative complications : a prospective study of 4400 patients observe between 1947 and 1973. *Diabetes Care 1 (1978) 168-188*

Quan MJ., Cochran C., Taylor SI., Eastman C.: Non- insulin- mediated glucose disappearance in subjects with IDDM. Discordance between experimental results and minimal model analysis. *Diabetes 43 (1994) 890- 896*

Randle PJ., Garland PB., Hales CN., Newsholme EA.: The glucose fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet 1 (1963) 785-789*

Randle PJ., Kerbey AL., Espinal J.: Mechanism decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones. *Diabetes / Mechanism Reviews* 4 (1988) 623-638

Randle PJ.: α - ketoacid dehydrogenase complex and respiratory fuel utilisation in diabetes . *Diabetologia* 28 (1985) 479-484

Reed LJ.: Chemical nature of alpha-lipoic acid. *J. Amer. Chem. Soc.* 73 (1951) 5920

Reed LJ.: Multienzyme Complexe. *Acc. Chem. Res.* 7 (1974) 40-46

Rick W.: Klinische Chemie und Mikroskopie. 3. Auflage, Springer- Verlag, Berlin/Heidelberg /New York (1974) 171, 251-252

Robertson RP., Seaquist ER., Walseth TF.: G protein and modulation of insulin secretion. *Diabetes* 40 (1991) 1-6

Roden M., Price Th. B., Preseghin G., Petersen KF., Rothman DI., Cline GW., Schulman GL.: Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J. Clin. Invest.* 97 (N12) (1996) 2859-2865

Sing HPP. Bowman RH.: Effect of D, L- α -lipoic acid on the citrate concentration and phosphofructokinase activity of hearts from normal and diabetic rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41 (1970) 555-561

Stansbie D.: Regulation of human pyruvate-dehydrogenase complex. *Clin. Sci. Mol. Med.* 51 (1976) 445-452

Starke AAR., Berger M.: Pathophysiologie, Pathogenese und Genetik des Stoffwechselsyndroms des Typ 2 Diabetes. Diabetes mellitus, Band II, Berlin- Chemie. Urban & Schwarzenberg . München – Wien – Baltimore (1995) 367-387

Taegtmeyer H., Passmore J.M.: Defective energy metabolism of the heart in diabetes. *Lancet* (1985) 139- 140

Taniguchi A., Nakai Y., Fukushima M., Kawamura H., Imura H., Nagata I., Tokuyama K.: Pathogenetic factor responsible for glucose intolerance in patients with NIDDM. *Diabetes* 44 (1992) 1540-1546

Thorburn AW., Gumbiner B., Bulacan F., Wallace P., Henry RR.: Intracellular glucose oxidation and glycogen synthase activity are reduced in non-insulin-dependent (Typ II) diabetes independent of impaired glucose uptake. *J. Clin. Invest.* 85 (1990) 522-529

Vaag A., Damsbo P., Hother-Nielsen O., Beck-Nielsen H.: Hyperglycaemia compensates for the defect in insulin-mediated glucose metabolism and in the activation of glycogen synthase in the skeletal muscle of patients with typ 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 35 (1992) 80-88

Wagh SS, Natraj CV., Menon KKG.: Mode of action of lipoic acid in diabetes. *J. Biosci.* 11 (1987) 59-74

Watanabe RM., Lovejoy J., Steil GM., Di Girolamo M., Bergmann RN.: Insulin sensitivity accounts for glucose and lactate kinetics after intravenous glucose injection. *Diabetes* 44 (1995) 954 –962

Welch S., Gebhart SSP., Bergman RN. Pholips LS.: Minimal model analysis of intravenous glucose tolerance test-derived insulin sensitivity in diabetic subject. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 71 (1990) 1508-1518

Wolfe RR., Jahoor F., Miyoshi H.: Evaluation of isotopic equilibration between lactate and pyruvate. *Am. J. Physiol.* 254 (1988) E 532-E535

Yki-Järvinen H., Bogardus C., Foley J.: Regulation of plasma lactate concentration in resting human subjects. *Metabolism* 39 (1990) 859-864

Zawadzki KJ., Wolfe RR., Mott MD., Lillioja S., Howard VB., Bogardus C.: Increased rate of cori cycle in obese subjects with NIDDM and effect of weight reduction. *Diabetes* 37 (1988)154-15

Danksagung

Herrn Privat-Dozenten Dr. med. Thomas Konrad möchte ich herzlich danken für die engagierte Betreuung, die fachliche Beratung und die jederzeit gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit während seiner Zugehörigkeit in der Med. Klinik I und als jetziger Leiter der Institut für Stoffwechselerkrankungen- Frankfurt (isf).

Herrn Prof. Dr. med. K.-H. Usadel danke ich besonders für die Überlassung des Themas und die mir gegebene Möglichkeit, diese Arbeit in seiner Klinik durchführen zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. med. Böhles und Herrn Dr. rer. nat. Sewell danke ich für die Hilfestellungen und Anregungen während der Arbeiten im Labor der Klinik für Kinderheilkunde I.

Ebenso gilt mein Dank den Mitarbeitern der endokrinologischen Ambulanz sowie den Assistentinnen des endokrinologischen Labors der Universitätsklinik Frankfurt am Main, insbesondere Frau Bohn und Frau Koralek-Athanasiv, für die gute Zusammenarbeit und die Mithilfe bei der Bestimmung der Proben.

Der Firma Viatris AG früher ASTA Medica insbesondere Herrn Dr. rer. nat. Tritschler, möchte ich danken für die Bereitstellung von Literatur.

Allen Patienten und Probanden gilt mein besonderer Dank für die freundliche und verständnisvolle Mitarbeit.

Nicht zuletzt danke ich auch meiner Familie und Frau Stefanie Füllert herzlich für die Unterstützung der Arbeit.

Teile der Arbeit wurden auf dem Kongreß der European Association of Study of Diabetes (EASD) 1996 in Wien vorgestellt: *Diabetologia* 39, Suppl.1, A226, 1996

Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Februar 1999 publiziert. *Diabetes Care*, Volume 22, 280-287

Lebenslauf

Name: Afsaneh Assadkhani

Anschrift: Overbergstr.16
65936 Frankfurt /M

Geburtsdatum:	10.12.1963
Geburtsort:	Avaj – Ghazvin / Iran
Familienstand:	Verheiratet
Nationalität:	iranisch/deutsch
.	
1970-1974	Grundschule (Iran)
1974-1982	Gymnasium und anschließend Abitur (Iran)
1983	Übersiedelung nach Deutschland
1983-1984	Erwerb der deutschen Sprachkenntnis
1985-1986	Studienkolleg Frankfurt/M
1986-1994	Medizinstudium an der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt/M
5/1995	Tätigkeit als AIP in der internistischen Praxis Frau Dr. Freienstein in Frankfurt/M
8/1995-1/1997	AIP Tätigkeit in der internistischen Praxis Dr. Firjahn- Andersch in Frankfurt/M
01/98- 04/98	Dozententätigkeit an der Krankenpflegeschule in Frankfurt/M
04/99-05/00	Traineelehrgang mit 8-monatigem Praktikum im Clementine- Kinderhospital in Frankfurt/M
Seit 12/00	Assistenzärztin im Mühlberg Krankenhaus in Frankfurt/M

Frankfurt/M, den 01.05.03

Afsaneh Assadkhani

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich ehrenwörtlich, dass ich die im Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel:

**Einfluss der α -Liponsäure auf die Insulinsensitivität und Glucoseeffektivität
bei Patienten Diabetes mellitus 2
eine Untersuchung mit der Minimal- Modeling -Technik**

unter der Leitung von PD. Dr. med. Thomas Konrad ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main 2003

Afsaneh Assadkhani