

Aus der Radiologischen Universitätsklinik Tübingen

Abteilung Radiologische Diagnostik

Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C. D. Claussen

Sektion für Experimentelle Radiologie

Leiter: Professor Dr. Dr. F. Schick

**Auswirkungen von Ernährung und körperlicher
Aktivität auf die tageszeitliche Änderung des
Lipidgehalts in der Skelettmuskulatur -
Studien mit der ^1H -Magnetresonanz-Spektroskopie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Manuela Etzel

aus

Esslingen am Neckar

2006

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. Dr. F. Schick
2. Berichterstatter:	Professor Dr. H. U. Häring

*meinen Eltern,
Diana und Thomas gewidmet*

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Allgemeines.....	1
1.2 Muskelphysiologie.....	2
1.2.1 Struktur der Skelettmuskulatur	2
1.2.2 Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur	4
1.2.3 Metabolismus muskulärer Lipide	7
1.3 Diabetes mellitus.....	8
1.3.1 Diabetes mellitus Typ 2 und Insulinresistenz	8
1.4 Stand der Forschung.....	11
1.1 Zielsetzung der Studie.....	16
 2. Material und Methoden	 17
2.1 Magnetresonanzmethoden.....	17
2.1.1 Grundlagen	17
2.1.2 T ₁ - und T ₂ -gewichtete Bildgebung	19
2.1.3 Volumenselektive Protonen-Magnetresonanzspektroskopie (¹ H-MRS)	23
2.1.4 Nicht-invasive Bestimmung intramyozellulärer Lipide mittels ¹ H-MRS	26
2.1.5 Vergleich der ¹ H-MR-Spektroskopie bei 1,5 T und 3 T	31
2.2 Metabolische Untersuchungen und anthropometrische Daten.....	36
2.2.1 Body-Mass-Index	36
2.2.2 Maximale aerobe Kapazität VO ₂ max	37
2.2.3 Oraler Glukose-Toleranz-Test	39

2.3	Studiendesign.....	40
2.3.1	Probandenkollektiv	40
2.3.2	Untersuchungsprotokolle	42
2.3.3	Auswertung	46
2.4	Statistik.....	47
3.	Ergebnisse	48
3.1	Ausgangswerte des IMCL-Gehalts im M. tibialis anterior und M. soleus.....	48
3.2	Extramyozelluläre Lipide im M. tibialis anterior und M. soleus.....	49
3.3	Korrelation zwischen intramyozellulärem Lipidgehalt, maximaler aerober Kapazität VO ₂ max und Insulinsensitivitäts-Index ISI.....	50
3.4	Veränderungen des intramyozellulären Lipidgehalts unter unterschiedlichen Bedingungen.....	52
3.4.1	Einfluss von kurzzeitigem Fasten auf den IMCL-Gehalt bei geringer körperlicher Belastung	52
3.4.2	Einfluss von Normalkost auf den IMCL-Gehalt bei geringer körperlicher Belastung	55
3.4.3	Einfluss von fettreicher Kost auf den IMCL-Gehalt bei geringer körperlicher Belastung	58
3.4.4	Einfluss von mäßiger aerober Bewegung auf den IMCL-Gehalt bei Normalkost	61
3.5	Vergleich der einzelnen Tagesbedingungen.....	64

4. Diskussion	66
4.1 Untersuchung der muskulären Lipide mittels volumenselektiver ^1H -MR-Spektroskopie.....	67
4.2 Beeinflussung der intramyozellulären Lipide durch unterschiedliche Ernährung.....	70
4.2.1 Fettreiche Ernährung	71
4.2.2 Fasten	73
4.3 Beeinflussung der intramyozellulären Lipide durch submaximale körperliche Belastung.....	77
5. Zusammenfassung	82
6. Literaturverzeichnis	87
7. Abkürzungsverzeichnis	98
8. Anhang	101

1. **Einleitung**

1.1 *Allgemeines*

Der menschliche Körper ist in all seinen Funktionen abhängig von Energie. Die Zufuhr von Energie für den Stoffwechsel wird durch Nahrungsaufnahme gewährleistet. Die im Körper freigesetzte Energie wird hierbei aus den unterschiedlichen Nahrungsbestandteilen wie Kohlenhydraten, Proteinen, Lipiden und Fettsäuren gewonnen. Der Energieumsatz in der Muskulatur hängt in erster Linie von der körperlichen Aktivität ab. Wenn das Körpergewicht konstant bleiben soll, muss die zugeführte Nahrung soviel Energie enthalten, dass der Verbrauch gerade ausgeglichen werden kann. Aus einer über den Verbrauch hinausgehenden Energieaufnahme resultiert eine positive Energiebilanz. Die überschüssig zugeführte Energie wird im Körper gespeichert, um als Reserve zur späteren Nutzung zur Verfügung zu stehen und führt damit zum Anstieg des Körpergewichts. Durch die Kombination aus vermehrter Nahrungsaufnahme und reduziertem Energieverbrauch findet eine Anlage von subkutanen und viszeralen Fettdepots statt, wobei es auch zu Lipidablagerungen in der Skelettmuskulatur kommt.

In der heutigen Wohlstandsgesellschaft ist ein großer Teil der Erwachsenen übergewichtig. Die Prävalenz der Adipositas (Body mass index (BMI) ≥ 30) nimmt in Deutschland seit vielen Jahren kontinuierlich zu. Derzeit sind etwa 50% der erwachsenen Männer mit einem BMI ≥ 25 übergewichtig und circa 18% mit einem BMI ≥ 30 adipös. Bei den erwachsenen Frauen sind etwa 35% übergewichtig und 20% adipös (56). Auch bei Kindern und Jugendlichen wurde in den letzten Jahren ein Anstieg beobachtet (44). Adipositas führt bei den betroffenen Personen zu bestimmten Komorbiditäten und Komplikationen wie Dyslipoproteinämie, kardiovaskuläre Erkrankungen und Stoffwechselstörungen (gestörte Glukosetoleranz, Insulinresistenz mit daraus resultierendem Typ 2 Diabetes mellitus).

Einen großen Anteil am Energieverbrauch und Fettstoffwechsel hat die Skelettmuskulatur, in der sich ein Teil der oben genannten Folgeerkrankungen abspielen, insbesondere die Entstehung des Typ 2 Diabetes mellitus.

1.2 *Muskelphysiologie*

Der menschliche Körper besteht zu 40–50% aus Muskelmasse. Die Muskulatur dient dem Erhalt lebensnotwendiger Funktionen durch ihre Fähigkeit zur Kontraktion und Krafterzeugung. Dabei unterscheidet man zwischen spezialisierten Muskelarten: quergestreifte Skelett- und Herzmuskulatur und glatte Muskulatur. Das Prinzip der Muskelaktion ist dabei bei allen Arten gleich und besteht aus einer Anlagerung von Querbrücken zwischen Aktin- und Myosinfilamenten, einer darauf folgenden Konformationsänderung dieser Querbrücken, durch welche die Aktinfilamente zwischen die Myosinfilamente hereingezogen werden und schließlich dem Lösen dieser Verbindung. Diese daraus resultierende zyklische Verkürzung findet unter Verbrauch von Adenosintriphosphat (ATP) statt. Die unterschiedlichen Aufgaben der einzelnen Muskelgruppen erfordert eine Spezialisierung, woraus sich auch funktionelle und strukturelle Unterschiede ergeben.

1.2.1 *Struktur der Skelettmuskulatur*

Histologisch aber auch biochemisch lassen sich Skelettmuskelfasern ihren Anforderungen entsprechend in drei Typen einteilen (24). Muskeln, die vorwiegend eine Haltefunktion ausüben, bestehen zum größten Teil aus langsamen roten Muskelfasern. Diejenige Muskulatur, die schnelle und kräftige Bewegungen ausführen muss, besteht überwiegend aus schnellen weißen Muskelfasern. Als dritten Muskelfasertyp lässt sich noch ein Intermediärtyp von den anderen beiden unterscheiden. Ebenfalls existieren biochemische Unterschiede zwischen den einzelnen Fasertypen. Dabei lassen sich

Unterschiede hinsichtlich der Oxidationskapazität je nach Fasertyp der Muskeln feststellen (23). Aus der Physiologie ist bekannt, dass bei Muskelaktionen die oxidativen Typ I Muskelfasern vor den schnellen oxidativ-glykolytischen Typ IIa Muskelfasern angespannt werden, während die ausschließlich glykolytischen Typ IIb Muskelfasern nur bei schnellen kraftvollen Kontraktionen rekrutiert werden.

Typ I Muskelfasern

Typ I Fasern sind reich an Mitochondrien und Myoglobin, welches die rote Färbung des Muskels ausmacht. Sie haben einen niedrigen Glykogen- und hohen Fettgehalt und erreichen aus diesem Grund eine hohe Rate an Fettoxidation (54). Sie gewinnen ihre erforderliche Energie vor allem durch den aeroben Abbau der Nährstoffe. Muskeln, die vorwiegend aus Typ I Fasern bestehen, zeichnen sich vor allem durch isometrische Kontraktionen aus. Die „langsam zuckenden“ Muskelfasern (slow twitch) mit hoher Ermüdungsresistenz besitzen ein dichtes Kapillarnetz für einen effektiven Gasaustausch, was sie allerdings empfindlich gegenüber Sauerstoffmangel macht. Als Beispiel wäre hier der M. soleus zu nennen.

Typ IIa Muskelfasern

Diese Muskelfasern spezialisieren sich durch schnelle Muskelkontraktionen („fast twitch“) und eine hohe Rate an ATPase-Aktivität. Sie haben einen hohen Gehalt an glykolytischen und oxidativen Enzymen. Durch zahlreiche Mitochondrien und Myoglobin erhalten diese Muskelfasern ihre rote Färbung. Als Energielieferanten dienen sowohl Glukose als auch Triglyzeride. Typ IIa Fasern mit hoher Ermüdungstendenz werden bei länger ausgeführten Kontraktionen mit relativ hoher Kraftentwicklung benötigt. Im M. quadrizeps femoris zeigt sich, dass große Unterschiede in der Faserverteilung zwischen Individuen vorliegen. Etwa 20 bis 66% Typ I Fasern, 18 bis 50% Typ IIa Fasern und 12 bis 34% Typ IIb Fasern werden identifiziert. Bei den Typ I Fasern

werden gar Verteilungen zwischen 15 bis 85% beobachtet. Weiteres Beispiel hierfür ist der M. biceps brachii, dessen Caput longum sehr viele Typ II Muskelfasern enthält, und dessen Caput breve in den knochennahen Abschnitten überwiegend Typ I Muskelfasern aufweist.

Typ IIb Muskelfasern

Weißer Muskelfasern, die zum größten Teil im M. tibialis anterior vorkommen, haben deutlich weniger Myoglobin und einen niedrigen Mitochondriengehalt. Es sind ebenfalls sog. „fast twitch“ Muskelfasern mit leicht ermüdbaren Fasern. Sie beziehen ihre Energie hauptsächlich durch anaeroben, glykolytischen Stoffwechsel. Histochemisch lassen sie sich über ihre hohe ATPase-Aktivität und einen hohem Glykogengehalt nachweisen. Ihre Energiebereitstellung erfolgt sehr rasch, v.a. über die Glykolyse. Dies ist wichtig für kurze bzw. intermittierende Belastungen mit hoher Kraftentwicklung.

1.2.2 Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur

Für die Deckung des hohen Energiebedarfs der Muskulatur stehen eine Reihe von unterschiedlichen Mechanismen zur Verfügung (51).

Als primäre Energieform wäre Adenosintriphosphat (ATP) zu nennen. Da ATP aber nur kurzfristig intrazellulär zur Verfügung steht, und ein Einstrom aus dem Extrazellulärraum nicht stattfindet, muss ATP in den Mitochondrien der Muskelzellen resynthetisiert werden. Dies geschieht durch die Verwendung von Creatinphosphat, welches in der Muskelzelle zur Verfügung steht. Dabei wird durch die Creatinkinase Adenosindiphosphat (ADP) unter Verbrauch von Creatinphosphat zu Adenosintriphosphat (ATP) phosphoryliert.

Ist der Vorrat an Creatinphosphat ebenfalls erschöpft, wird auf eine weitere Energiequelle zurückgegriffen. Energielieferant für den Muskel ist die

insulinabhängige Glukoseaufnahme in die Zelle. Im Gegensatz zu Fettsäuren kann Glucose anaerob und aerob abgebaut werden. Unter zellphysiologischem Aspekt ist Glucose der vielseitiger verwendbare Brennstoff. Ihr Abbau erfolgt über die Glykolyse und endet auf der Stufe des Laktats. Diese Stoffwechselfvorgänge finden vor allem in den weißen schnellen Typ IIb Muskelfasern, wie z.B. dem M. tibialis anterior oder M. gastrocnemius, statt.

In der Muskelfasermembran (Sarkolemm) befinden sich für Glucose spezifische Transportermoleküle. Diese Glucose-Transporter (GLUT) kommen in gewebespezifischen, molekularen Varianten („Isoformen“) vor. Davon sind im Skelettmuskel die Isoformen GLUT1 und GLUT4 bedeutsam. GLUT1, für den basalen Glucosetransport zuständig, ist nur in geringer Menge vorhanden und fest in der Membran verankert. GLUT4, der im Muskel vorherrschende Transporter, ist mit wechselnder Konzentration im Sarkolemm vertreten. Bei Bedarf kann GLUT4 aus dem Zellinneren rasch in die Zellmembran eingebaut werden. Dieser Einbau wird auf zweierlei Weise reguliert, durch Insulin und Muskelarbeit (2). Ein Anstieg des Insulinspiegels im Blut führt kurzfristig zu einer erhöhten Einlagerung von GLUT4-Molekülen in das Sarkolemm. Kontraktile Aktivität hat den selben Effekt, auch sie bewirkt einen erhöhten Einbau von GLUT4 in das Sarkolemm. Da die Aufnahme der Glucose in die Muskelfaser von der Zahl der im Sarkolemm vorhandenen GLUT4-Moleküle abhängt, steigern Insulin und Muskelarbeit die Glucoseaufnahme. Insulinmangel (z.B. Fasten, Diabetes mellitus) und muskuläre Inaktivität bewirken das Gegenteil, d.h. unter diesen Bedingungen ist die Glucoseaufnahme herabgesetzt.

Kohlenhydrate und Fette sind die hauptsächlichen Brennstoffe des Energiestoffwechsels im Muskel. Unter normalen Bedingungen spielen Aminosäuren nur eine geringe Rolle. Als Abbauprodukte von Muskelprotein werden sie jedoch im Hungerstoffwechsel verstärkt als Brennstoffe herangezogen. Neben Asparaginsäure, Glutaminsäure und Alanin sind das vor

allen die verzweigten Aminosäuren (Valin, Isoleucin, Leucin), deren aerob-oxidativer Abbau im wesentlichen nur im Muskelgewebe stattfindet

Besonders bei Ausdauerleistung stehen zur Deckung des Energiebedarfs als weitere Quelle die freien Fettsäuren (FFS) bereit. Sie werden bei lang andauernder Arbeit im Skelettmuskel zunehmend als Brennstoff herangezogen. Dabei erreicht die Fettsäureverbrennung ihren Maximalwert bei einer Muskelarbeit von etwa 60-70% der maximalen Sauerstoffaufnahme. Im Gegensatz zum Glucose-Abbau ist die Fettsäureoxidation, die in den Mitochondrien erfolgt, ein obligat aerober Prozess, d.h. sie ist an die Anwesenheit von Sauerstoff gebunden. Durch Lipasen werden die Fettsäuren im Fettgewebe freigesetzt, gelangen ins Blut und unter Beteiligung spezifischer Transportermoleküle in die Muskelfaser. Dort binden sie an zytosolische Vehikelproteine, werden unter ATP-Verbrauch aktiviert und gelangen durch einen Carnitin-vermittelten Transportzyklus in die Mitochondrien. Erst hier beginnt ihr eigentlicher Abbau im Stoffwechselweg der β -Oxidation, die ATP über Substratkettenphosphorylierung im Citrat-Zyklus und Atmungskettenphosphorylierung in großer Menge bereitstellt.

Die im Blut zirkulierenden freien Fettsäuren werden aber auch in die Muskelzelle aufgenommen, durch das Zytosol transportiert und anschließend in „Fetttröpfchen“ als Triglyzeride gespeichert. Diese intramyozellulären Lipide (IMCL) in Form von Triglyzeriden stehen bei Bedarf mittels Lipidoxidation als Energiequelle zu Verfügung. Man findet diese vorwiegend in den roten mitochondrienreichen Typ I Muskelfasern, wie beispielsweise dem M. soleus (50). Von besonderer Bedeutung ist, dass bei erhöhter Konzentration von Triglyzeriden in der Muskelzelle die Fettsäureoxidation überwiegt und unter Hemmung des Glukosestoffwechsels stattfindet. Dieser Effekt wird auch als Glukose-Fettsäure-Zyklus oder Randle-Zyklus bezeichnet (64). Ist diese insulinvermittelte Glukoseaufnahme und -verwertung in den Skelettmuskelzellen gestört und überwiegt die Lipidoxidation, kommt es zu dem Effekt der Insulinresistenz. Unter Insulinresistenz versteht man ein vermindertes

Ansprechen der Zellen des menschlichen Körpers auf Insulin. Hierdurch ist die Glukoseaufnahme in die Zelle gestört. Auch die Muskulatur, die Leber und das Fettgewebe reagieren weniger empfindlich gegenüber dem Hormon Insulin. Die durch Insulin vermittelte Antilipolyse wird gehemmt, wodurch es zum Anstieg der Fettsäurekonzentration im Serum kommt (26). Eine Insulinresistenz tritt zum Beispiel im Rahmen eines Typ 2 Diabetes mellitus auf.

1.2.3 Metabolismus muskulärer Lipide

Vermutlich spielen bei der Entstehung der Insulinresistenz in der Skelettmuskulatur mehrere Faktoren eine Rolle. Die Pathophysiologie der Insulinresistenz ist bis heute noch nicht eindeutig geklärt (27,29).

Randle et al. demonstrierten bereits vor mehr als 30 Jahren in verschiedenen Studien, dass es im Skelettmuskel zu einer Konkurrenz zwischen Glukose und den freien Fettsäuren um die Substratoxidation kommt (64,65). Zum einen kommt es durch vermehrte Lipolyse, welche vermutlich durch Hemmung der insulininduzierten Antilipolyse verursacht wird (26,64,65), zu einer erhöhten systemischen Konzentration von freien Fettsäuren. Diese wiederum bewirken am Skelettmuskel über den Randle-Zyklus eine verminderte oxidative und nicht-oxidative Glukoseutilisation und an der β -Zelle des Pankreas eine gestörte Insulinsekretion (64,65). Dies führt zu einer Reduktion der Glukoseaufnahme in die Muskelzelle mit daraus resultierendem hohem Glukoseplasmaspiegel sowie verminderter Glykogensynthese. Aufgrund des hohen Lipidspiegels im Serum findet nun eine Substratkonkurrenz zwischen FFS und Glukose statt. Eine gesteigerte Lipidoxidation in den Muskelzellen und verminderte insulinabhängige Glukoseaufnahme ist die Folge.

Nachfolgende Studien, die unter anderem von Boden et al. (4,5) durchgeführt wurden, zeigten, dass eine Serumkonzentration der FFS von $\geq 0,75$ mmol/l zu einer verminderten Glykogensynthese im Skelettmuskel führt, und damit auch die Glukoseaufnahme in die Skelettmuskelzelle eingeschränkt ist (41,70).

1.3 *Diabetes mellitus*

Beim Diabetes mellitus handelt es sich um eine Stoffwechselerkrankung, die sich vordergründig vor allem durch erhöhten Blut- und Urinzucker auszeichnet, bei der jedoch nicht nur der Kohlenhydratstoffwechsel, sondern auch der Fett- und Eiweißstoffwechsel tiefgreifend gestört ist. Ursache ist die unzureichende Insulinwirkung an Leber-, Fett- und Muskelzelle. Diese kann entweder durch einen Insulinmangel oder eine verminderte Ansprechbarkeit der Gewebe auf Insulin bedingt sein (67).

Der Diabetes mellitus lässt sich nach der WHO (World Health Organisation) und ADA (American Diabetes Association) anhand seiner unterschiedlichen Ätiologie folgendermaßen einteilen:

Der Typ 1 Diabetes ist gekennzeichnet durch eine Zerstörung der β -Zellen des Pankreas aufgrund immunologischer oder idiopathischer Vorgänge, was gewöhnlich zu einem absoluten Insulinmangel führt. Daraus resultiert, dass diese Patienten auf die parenterale Substitution von Insulin angewiesen sind. Während sich der Typ 1 Diabetes vorwiegend im jugendlichen Alter manifestiert, betrifft der Typ 2 Diabetes Patienten im höheren Lebensalter und steht meistens im Zusammenhang mit einer Überernährung und Bewegungsmangel.

1.3.1 Diabetes mellitus Typ 2 und Insulinresistenz

Die Zahl der Menschen, die an einem Diabetes mellitus Typ 2 erkranken, ist in den vergangenen Jahrzehnten stark angestiegen. Während die Diabeteshäufigkeit der Bevölkerung Anfang der Sechzigerjahre bei 0,6% lag, gehen die neuesten Schätzungen von 5 - 10% aus. Diese Zahlen beziehen sich auf die gesamte Bevölkerung. In der älteren Generation liegt die Prävalenz einer Diabeteserkrankung – je nach Alter – bei bis zu 25% (30). Allerdings

steigt die Zahl der übergewichtigen Kinder und Jugendlichen, die bereits heute eine eingeschränkte Glukosetoleranz aufweisen, stark an (44).

Eine wesentliche Rolle in der Pathogenese des Typ 2 Diabetes spielen die gestörte Glukosetoleranz, eine Insulinresistenz der Skelettmuskulatur (22,35,89) und eine gestörte Insulinsekretion der β -Zellen des Pankreas (17,20,22,30). Pathophysiologisch wird das Vorliegen einer Insulinresistenz angenommen, welche die β -Zellen des Pankreas zu einer vermehrten Insulinausschüttung veranlasst. Diese Hyperinsulinämie dient im Rahmen einer Insulinresistenz als Kompensationsmöglichkeit, d.h. durch hohe Insulinspiegel kann die insulinresistente Muskelzelle wieder Glukose aufnehmen. Damit bleiben lange Zeit die postprandialen und Nüchternglukosewerte im Normbereich. Vermutet wird, dass erst durch das Fehlen dieses Kompensationsmechanismus eine pathologische Glukosetoleranz entsteht und sich als Typ 2 Diabetes manifestiert (34).

Viele Studiengruppen beschreiben, dass die Insulinresistenz der Skelettmuskulatur einer gestörten Insulinsekretion zeitlich vorausgeht und somit zu hohen Blutzuckerwerten führt (17,20,30,54,92). Angenommen wird allerdings auch, dass eine verminderte frühe Insulinsekretion als Reaktion auf einen Glukosereiz zu einer postprandialen Hyperglykämie führt (34). Diese wiederum steigert die Aktivität der β -Zellen des Pankreas und bewirkt folglich eine Hypersekretion von Insulin. Charakteristischerweise zeichnet sich der Diabetes mellitus Typ 2 anfangs durch erhöhte und später erniedrigte Insulinspiegel aus.

Bei der Entstehung des Typ 2 Diabetes spielen auch genetische Faktoren eine große Rolle. Bei einem erkrankten eineiigen Zwilling liegt die Manifestation einer Diabeteserkrankung beim anderen Zwilling bei 80 - 100%.

Nach gegenwärtiger Erkenntnis geht man davon aus, dass zwischen dem Auftreten der Insulinresistenz und der Entwicklung hoher Blutzuckerspiegel ein großer zeitlicher Abstand von mehreren Jahren bis Jahrzehnten liegt. In dieser

Periode kann es bei den Betroffenen oft schon zur chronischen Schädigung verschiedener Organsysteme kommen. Diverse Studien haben gezeigt, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung einer Typ 2 Diabeteserkrankung bereits bei 20 - 40% der Patienten Diabetesfolgeschäden an Blutgefäßen, Nerven oder Nieren vorliegen. Somit stellt die beginnende und noch nicht diagnostizierte Typ 2 Diabeteserkrankung auch schon im frühen Stadium ein erhebliches Gesundheitsrisiko dar.

Die Mehrzahl der Diabeteserkrankungen entwickeln sich auf dem Boden eines metabolischen Syndroms (auch Wohlstandssyndrom genannt). Gerald Reaven beschrieb 1988 das Zusammentreffen verschiedener kardiovaskulärer Risikofaktoren als Syndrom X (66). Das Syndrom erhielt im Laufe der Zeit mehrere verschiedene Bezeichnungen, wie Insulinresistenzsyndrom (20), plurimetabolisches Syndrom oder das „tödliche Quartett“. Es handelt sich dabei um eine besondere Konstellation von Risikofaktoren für Typ 2 Diabetes und besonders für kardiovaskuläre Erkrankungen. Beschrieben wird ein gehäuftes Auftreten von verschiedenen Risikofaktoren wie stammbetonte Adipositas, Dyslipoproteinämie, essentielle Hypertonie und Glukoseverwertungsstörung. An deren Anfang besteht eine Insulinresistenz z.B. der Skelettmuskulatur, die erhöhte Insulinsplasmaspiegel zur Glukoseverwertung erforderlich macht. Diese Hyperinsulinämie wiederum erhöht das Hungergefühl, führt zu Adipositas und beschleunigt somit die Entstehung einer vorzeitigen Arteriosklerose mit daraus folgenden kardiovaskulären Erkrankungen. Die Diagnose des Metabolischen Syndroms wird im Jahre 2005 nach dem Vorschlag der AHA (American Heart Association), NHLBI (National Heart, Lung and Blood Institute) und ADA (American Diabetes Association) anhand der folgenden Kriterien gestellt:

1. Abdominale, stammbetonte Adipositas.
2. Erhöhte Triglyzerid-Werte ≥ 150 mg/dl.
3. Vermindertes HDL-Cholesterin $\text{♂} \leq 40$ mg/dl und $\text{♀} \leq 50$ mg/dl
4. Hypertonie $\geq 135/85$ mm Hg
5. Glukosetoleranzstörung mit Nüchternblutzucker ≥ 100 mg/dl

Somit erhöht die Insulinresistenz nicht nur das Risiko für eine Diabeteserkrankung, sondern auch für weitere Erkrankungen wie arterielle Hypertonie, kardiovaskuläre Erkrankungen, Fettstoffwechselstörungen und Adipositas (21,66)

1.4 *Stand der Forschung*

Es wird angenommen, dass intramyozelluläre Lipide (IMCL) eine Rolle in der Pathogenese der Insulinresistenz und des Typ 2 Diabetes spielen (38,47). Die Bestimmung der muskulären Lipide erfolgte früher mit Hilfe von schmerzhaften Muskelbiopsien, die mit großem Aufwand und erheblichen Nachteilen für den Probanden verbunden waren. Außerdem konnte durch diese Muskelbiopsien auch nur die Gesamtheit der muskulären Lipide erfasst werden. Bei zahlreichen invasiv-bioptischen Untersuchungen konnte bei Patienten mit Insulinresistenz ein signifikant erhöhter Fettanteil in den Muskeln festgestellt werden, der unabhängig vom Ausmaß der Adipositas war (62).

Kelley et al. führten mittels Computertomographie ähnliche Untersuchungen durch, konnten aber nicht zwischen intra- und extramyozellulären Lipiden unterscheiden (40). Die Protonen-Magnetresonanz-Spektroskopie (¹H-MRS) bietet eine Möglichkeit zur nicht-invasiven Bestimmung dieser Lipide (72) und deren Differenzierung in intra- und extramyozellulären Anteil (7,8,36,79,87). Die Aufspaltung dieser Lipidsignale kommt durch die unterschiedlichen chemischen und physikalischen Eigenschaften der in den Fettsäuren gebundenen Protonen zustande. Aufgrund verschiedener geometrischer Anordnungen der intra- und extrazellulären Fettkompartimente kommt es zu Suszeptibilitätseffekten und Frequenzverschiebungen der Signale durch, welche eine Differenzierung dieser beiden unterschiedlichen Fettkompartimente ermöglicht (7,46,72).

Im Bezug auf den Fettstoffwechsel der Skelettmuskulatur und der Insulinsensitivität zeigen tierexperimentell durchgeführte Studien, dass durch eine fettreiche Diät eine Insulinresistenz verursacht werden kann (59,83). Darüber hinaus wurde in weiteren Studien belegt, dass fettreiche Ernährung zu einem erhöhten intramyozellulären Lipidgehalt (IMCL) führt, welcher eng mit dem Grade der Insulinresistenz korreliert (59,60,62).

Ebenso scheint sich die Insulinsensitivität in Muskeln verschiedener Muskelfasertypen zu unterscheiden (49,57). Lillioja et al. (52) stellten hierzu eine positive Korrelation zwischen dem Insulinstoffwechsel und dem Prozentsatz an Typ I Muskelfasern im M. vastus lateralis fest. Eine negative Korrelation hingegen ist bei Typ IIb Fasern zu erfassen. Krššák et al. (47) schilderten eine Abhängigkeit des intramyozellulären Fettgehalts des M. gastrocnemicus von der Insulinresistenz.

Nachdem sich die Magnetresonanztomographie als geeignete Methode zur Darstellung der Stoffwechselfvorgänge, vor allem des Lipidmetabolismus, etabliert hatte, gab es zahlreiche Untersuchungen, die die intra- und interindividuelle Unterschiede des IMCL-Gehaltes erforschten.

Jacob et al. demonstrierten, dass bei direkten Nachkommen von Typ 2 Diabetikern mit Insulinresistenz der Anteil an intramyozellulärem Fett im Skelettmuskel gegenüber insulinsensiblen Probanden deutlich erhöht ist (38). Es besteht also eine negative Korrelation zwischen IMCL-Gehalt und Insulinsensitivität. So zeigte sich im M. tibialis anterior ein gegenüber der insulinsensiblen Kontrollgruppe um 57% höherer Lipidgehalt, im M. soleus sogar ein um 84% erhöhter Wert (38).

Auch Brechtel et al. (12) beschreiben bei insulinresistenten Probanden (ebenfalls direkte Nachkommen von Typ 2 Diabetiker) für den M. tibialis anterior und den M. soleus einen signifikant höheren intramyozellulären Lipidgehalt, wobei festzustellen war, dass der IMCL-Anteil im M. tibialis anterior um das 1,6-

fache und im M. soleus um das Doppelte erhöht war. Es gab keinen Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und EMCL-Anteil im M. soleus (12,38), ebenfalls konnte kein Zusammenhang zwischen der Dicke des subkutanen Fettgewebes und dem Gehalt an intramyozellulären Lipiden festgestellt werden (12).

Stein et al. berichteten über ein Probandenkollektiv mit bestehender Insulinresistenz, bei dem erhöhte Werte an intramyozellulären Lipiden im M. tibialis anterior vorherrschten (80). Dies wurde unter anderem von Perseghin et al. bestätigt, welche bei direkten Nachkommen von Typ 2 Diabetikern im M. soleus ähnliche Verhältnisse vorfanden (61).

Insulinsensible Personen ohne vermehrte sportliche Aktivität wiesen einen niedrigen Gehalt an intramyozellulären Lipiden auf. Bei untrainierten, insulinresistenten Personen hingegen zeigt sich ein höherer IMCL-Gehalt als bei den insulinsensiblen Personen. Allerdings zeichnen sich auch trainierte Ausdauersportler (Marathonläufer), welche als insulinsensibel eingestuft werden konnten, durch einen erhöhten IMCL-Gehalt aus (88). Bereits Thamer et al. (88) erwähnten dieses Verteilungsmuster bezüglich IMCL-Gehalt und Insulinresistenz bzw. Insulinsensitivität, welches einem bestimmtem Kurvenbild entspricht, das man als „u-shaped curve“ bezeichnen könnte. (Abb. 22, S. 79)

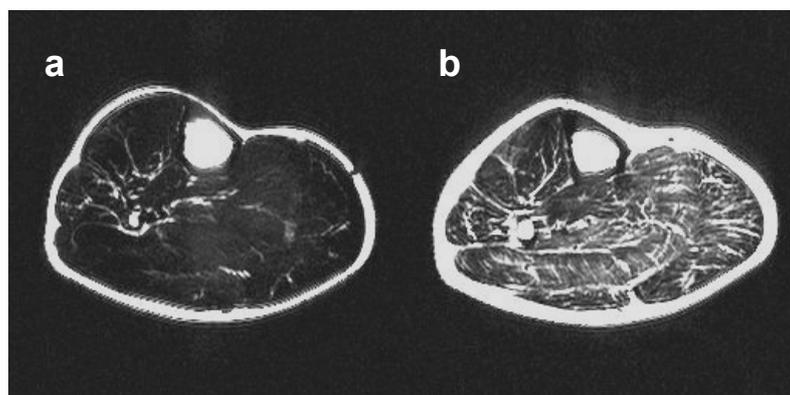


Abb. 1: Fettselektives MR-Tomogramm aus der Wadenmuskulatur eines trainierten 35-jährigen Sportler (a) mit niedrigem Lipidgehalt und MRT eines 34-jährigen insulinresistenten Probanden (b) mit höherem muskulären Lipidgehalt.

Durch Lipidinfusion konnten andere Studien bei hyperinsulinämischen Bedingungen einen signifikanten Anstieg der intramyozellulären Lipide im M. soleus und M. tibialis anterior feststellen. Eine Hyperinsulinämie per se hatte keinen Einfluss auf die IMCL (1,6,13). Vergleiche zwischen fettreicher Diät und Normalkost bei Probanden ohne Insulinresistenz zeigten, dass es bei fettreicher Ernährung zu einem deutlichen Anstieg der IMCL in beiden Muskelgruppen und zu einer Abnahme der Insulinsensitivität gekommen war, wohingegen bei Normalkost keine Veränderung zu verzeichnen war (1).

Schrauwen-Hinderling et al. stellten einen Anstieg der intramyozellulären Lipide im M. vastus lateralis um 54% nach einer einwöchigen fettreichen Diät fest, die mit einer Adaption des Fettstoffwechsels einherging. Es kam zu einer Speicherung der zugeführten Fette in der Muskelzelle, was bedeutet, dass diese Lipide nicht mittels Lipidoxidation verstoffwechselt wurden (76).

Eine Fastenperiode über mehrere Tage führte ebenfalls zum Anstieg der freien Fettsäuren und Triglyzeride im Blut und zu einem ausgeprägten Anstieg der IMCL (77,91).

Bereits durch Muskelbiopsien konnte nachgewiesen werden, dass es unter moderater aerober körperlicher Belastung zu einem Abfall der IMCL kommt und während der körperlichen Erholungsphase wieder ein Anstieg zu sehen war (15,78).

Mit Hilfe der ¹H-Magnetresonanz-Spektroskopie wurden weitere Untersuchungen bezüglich der Auswirkung von körperlicher Belastung durchgeführt. Diese kamen zu dem Ergebnis, dass es zu einer Reduktion der IMCL während Belastung kommt. Allerdings wurde auch hier ein Wiederanstieg nach einigen Tagen festgestellt (7,13,18,19,48,68,69). Die IMCL dienen bei trainierten Personen während kurzfristiger mittlerer aerober Belastung als Energielieferant (14).

Decombaz et al. (19) untersuchten, inwiefern sich nach körperlicher Belastung der IMCL-Gehalt der Skelettmuskulatur (M. tibialis anterior) bei fettreicher (55% Fett) und fettreduzierter (15% Fett) Diät verändert. Verglichen wurden trainierte und untrainierte Probanden. Die Ergebnisse zeigten, dass es Unterschiede bezüglich des IMCL-Gehaltes vor und nach körperlicher Belastung bei trainierten und untrainierten Probanden gab. Bei trainierten Personen lag der IMCL-Gehalt durchschnittlich 71% höher gegenüber untrainierten Probanden. So kam es bei allen Personen zu einer Reduktion um circa 25% während der zweistündigen Belastung. Nach einer 30-stündigen Erholungszeit, in der die oben beschriebene Diät verabreicht wurde, zeigte sich ein Wiederanstieg des IMCL-Gehalt bei fettreicher Diät um 30 - 45% gegenüber dem Ausgangswert vor der körperlichen Bewegung. Bei fettarmer Diät zeigte sich eine Reduzierung gegenüber dem Ausgangswert um 5 - 17%. Der Trainingsstatus hatte keinen Einfluss auf die Veränderung des intramyozellulären Lipidgehalt unter den beiden Ernährungsbedingungen. Fettreiche Diät nach sportlicher Bewegung fördert den Wiederanstieg des intramyozellulären Lipidgehaltes unabhängig vom körperlichen Trainingstatus. Weiterhin kann der Verlust an intramyozellulären Lipiden durch die sportliche Bewegung mit fettreicher Ernährung innerhalb eines Tages kompensiert werden (19).

Im Bezug auf die Pathophysiologie der Insulinresistenz erscheint hier eine weitere Untersuchung verschiedener Muskelgruppen und deren unterschiedlichen Fettgehalt unter Berücksichtigung der zirkadianen Rhythmik besonders interessant.

1.5 Zielsetzung der Studie

Der gegenwärtige Stand in der Erforschung der Pathogenese der Insulinresistenz und deren Zusammenhang mit muskulären Lipiden lässt hier weitere genauere Untersuchungen dieser extra- und intramyozellulären Lipide als wichtig erscheinen.

Gegenstand dieser Arbeit ist die Beurteilung des intramyozellulären Lipidgehaltes in der Skelettmuskulatur bei gesunden insulinsensiblen männlichen Probanden im Hinblick auf die zirkadiane Rhythmik. Die Untersuchung des Lipidmetabolismus in der Skelettmuskulatur wurde bei dieser Arbeit anhand von Magnetresonanz-Untersuchungen durchgeführt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist, mit spektroskopischen Magnetresonanzmethoden darzustellen, inwiefern es im Laufe eines Tages zu einer Veränderung des intramuskulären Lipidgehaltes, speziell der intramyozellulären Lipide, durch verschiedene Ernährung und körperliche Bewegung kommt und wie diese Veränderung eingestuft werden kann. Zu diesen kurzfristigen Interventionen bezüglich Ernährung und körperlicher Aktivität zählen:

- Fasten mit geringer körperlicher Belastung
- Normalkost mit geringer körperlicher Belastung
- Fettreiche Kost mit geringer körperlicher Belastung
- Moderate aerobe Bewegung bei Normalkost

2. Material und Methoden

2.1 Magnetresonanzmethoden

2.1.1 Grundlagen

Die Magnetresonanztomographie (MRT) bezeichnet ein Schnittbildverfahren, das sich die Prinzipien der kernmagnetischen Resonanz zunutze macht, die bereits im Jahre 1946 von F. Bloch und E. Purcell näher beschrieben wurde.

Atome besitzen im Zentrum Atomkerne, welche sich um die eigene Achse drehen und somit einen Drehimpuls erzeugen. Diese Eigenrotation wird als Kernspin bezeichnet. Die Bedingung für einen Kernspin bei Atomkernen ist erfüllt, wenn diese nicht gleichzeitig eine gerade Protonen- und Neutronenzahl besitzt. Durch die Mitrotation der Ladungen dieser Atomkerne wird ein, wenn auch sehr kleines, magnetisches Moment erzeugt. Dieses Magnetfeld weist einen Dipolcharakter mit der Symmetrieachse entlang der Drehachse auf. Durch die Summation vieler dieser kleinen Magnetfelder unterschiedlicher Atomkerne in Körpergewebe resultiert eine von außen messbare Gesamtmagnetisierung.

Werden diese magnetischen Dipole in ein homogenes statisches Magnetfeld B_0 gebracht, findet eine Ausrichtung statt, in dem einige Spins parallel und andere antiparallel zum Feld ausgerichtet werden. Eine geringe Mehrzahl der Spins sind parallel zur Richtung des Feldes ausgerichtet, die anderen Spins sind entgegengesetzt, also antiparallel ausgerichtet. Selbst bei sehr starken äußeren Magnetfeldern von 3 T Feldstärke ist es nur möglich, etwa 10:1.000.000 (bei 1,5 T hingegen nur 5:1.000.000) Überschuss von entlang dem äußeren Magnetfeld ausgerichteten Kernen gegenüber den antiparallelen, also entgegen dem Magnetfeld orientierte Kerne, herzustellen.

Dieser kleine Überschuss erzeugt dennoch eine makroskopische Magnetisierung M , die eine vektorielle Größe darstellt. Im Ruhezustand oder auch Gleichgewichtszustand M_0 ist diese dem statischen Magnetfeld B_0 parallel ausgerichtet.

Eine von außen messbare Magnetisierung ergibt sich erst, wenn die Magnetisierung M durch einen passenden Hochfrequenzpuls ausgelenkt wird. Die Magnetisierung besteht dann aus zwei Teilkomponenten: der transversalen Quermagnetisierung und der longitudinalen Längsmagnetisierung. Bei der transversalen Magnetisierung, die senkrecht zum statischen Magnetfeld B_0 steht, findet eine Rotationsbewegung mit einer bestimmten Frequenz, der sogenannten Larmorfrequenz, statt. Diese Larmorfrequenz ist proportional zur vorliegenden Feldstärke des statischen Magnetfeldes.

Bei der Längsmagnetisierung dagegen findet man keine von außen messbaren Signale. Hierzu benötigt man einen von außen zugeführten Hochfrequenzimpuls (HF-Puls), der senkrecht zum statischen Magnetfeld B_0 gerichtet ist. Dieser tritt in Wechselwirkung mit der Magnetisierung M der Atomkerne. Die magnetischen Dipole werden aus ihrer Ruheposition ausgelenkt.

Sobald das Hochfrequenzfeld abgeschaltet wird, sind die Magnetdipole bestrebt, in ihre ursprüngliche Ausrichtung zurückzukehren. Diesen Vorgang nennt man Relaxation. Auch finden sich Unterschiede in der Relaxation bezüglich der Quer- und Längsmagnetisierung. Die Relaxation läuft hierbei unterschiedlich schnell ab und ist abhängig von der Art des Gewebes. Diese verschiedenen Relaxationsarten sind neben der Protonendichte die kontrastgebenden Gewebeeigenschaften bei der Bildgebung. Während dieser Relaxation verlieren sie die bei der vorherigen Anregung zugeführte Energie und gehen in den niedrigeren Grundzustand über, indem sie die Energie in Form von elektromagnetischen Signalen abstrahlen. Die abgestrahlten Hochfrequenzsignale werden in einer Empfangsspule registriert und tragen

nach weiterer Verarbeitung zur Bildgebung oder zur Berechnung von Signalkurven bei, wie sie in der Magnetresonanzspektroskopie (MRS) verwendet werden. Die Stärke des Hochfrequenzsignals, welches vom Gewebe ausgestrahlt wird, entspricht der Signalintensität und damit der Bestimmung der Helligkeit des abgebildeten Gewebes in der MR-Tomographie. Die Larmor- bzw. Resonanzfrequenz des Kernspin ist abhängig vom Isotop und der Magnetfeldstärke am Ort selbst. Für das Proton des Wasserstoffes zum Beispiel liegt die Larmorfrequenz in einem Magnetfeld der Stärke 1,5 T bei etwa 63,9 MHz und bei 3 T bei 127,8 MHz.

Für die Magnetresonanztomographie spielen die Atome eine Rolle, die ein nach außen wirksames resultierendes magnetisches Moment besitzen. Der wichtigste Atomkern mit einem derartigen magnetischen Moment ist das Proton des Wasserstoffs, der an Sauerstoff gebunden als Wasser, in genügend großer Anzahl für eine ausreichende Signalintensität im menschlichen Körper vorhanden ist.

2.1.2 T_1 - und T_2 -gewichtete Bildgebung

Bei der Magnetresonanztomographie wird im wesentlichen die räumliche Verteilung der Protonen wiedergegeben, die im Gewebe in Form von mobilen Wasser- und Lipidmolekülen enthalten sind. Dabei steht die transversale Magnetisierung nicht nur mit der Anzahl der zum Signal beitragenden Protonen, sondern auch mit der Beweglichkeit der wasserstofftragenden Moleküle in Zusammenhang. Die Molekülbeweglichkeit ihrerseits äußert sich in Form der Relaxationszeiten.

Nach Abschalten des Anregungsimpulses kehren die Spins der Protonen in ihre ursprüngliche Ausrichtung zurück, sie relaxieren. Während dieser Relaxation verlieren sie die bei der vorherigen Anregung zugeführte Energie, indem sie diese in Form von elektromagnetischen Signalen abstrahlen. Der magnetische

Anteil dieser abgestrahlten Signale wird in einer Empfängerspule registriert und trägt nach weiterer Verarbeitung zur Bildgebung oder andersartigen Informationsgewinnung bei. Das Verhalten der Spins nach dem Anregungsimpuls hat zwei Grundarten von Relaxation zur Folge: Die Spin-Gitter-Relaxation und die Spin-Spin-Relaxation.

a) T_1 -Relaxationszeit:

Die Spin-Gitter-Relaxation bezeichnet die Wiederaufnahme der Longitudinalmagnetisierung, d.h. die Erholung der Magnetisierung in Richtung des statischen Magnetfeldes. Diese Erholung wird dadurch bestimmt, wie schnell die Spins ihre aufgenommene Energie wieder abgeben. Dies wiederum ist von der Einbindung in das molekulare System (Gitter) des Gewebes abhängig. Durch unterschiedliche Relaxationszeiten entstehen Kontraste zwischen verschiedenen Gewebearten, so z.B. zwischen gesundem Gewebe und Tumorgewebe. Diese Relaxation verläuft exponentiell und wird daher durch ihre Zeitkonstante T_1 charakterisiert.

b) T_2 -Relaxationszeit:

Die Spin-Spin-Relaxation bezeichnet die Abnahme der Transversalmagnetisierung und wird durch die Zeitkonstante T_2 beschrieben. Diese Relaxation ist in vielen Geweben erheblich schneller als die Spin-Gitter-Relaxation, da die in die Querebene ausgelenkten Spins in sehr starke Wechselwirkung mit den anderen Spins treten und die resultierende Quermagnetisierung schneller abnimmt. Diese Wechselwirkung mit anderen Spins ist ebenfalls gewebeabhängig, so dass auch hier Kontraste zwischen verschiedenen Gewebearten zu gewinnen sind.

Ein Kontrast zwischen Gewebearten kann aber auch durch Unterschiede im Protonengehalt des Gewebes erzeugt werden. In diesem Fall spricht man vom Kontrast durch die Protonendichte (PD). Jede dieser drei Arten der Gewebekontrastierung lässt sich durch entsprechende Parameter in den Messprogrammen (Pulssequenzen) hervorheben. Man spricht dabei von T_1 -, T_2 - und PD-Gewichtung.

Auf T_1 -gewichteten Bildern erscheint Fettgewebe im Gegensatz zu Muskelgewebe aufgrund der kürzeren longitudinalen Relaxationszeit signalreich. Freies Wasser und andere Flüssigkeiten haben längere longitudinale Relaxationszeiten, weshalb sie dunkler dargestellt werden. Muskelgewebe mit einer relativ kurzen transversalen Relaxationszeit zeigt auf T_2 -gewichteten MR-Bildern eine schwächere Signalintensität als Fett oder freies Wasser. Fettreiche Strukturen im Muskel selbst, aber auch Flüssigkeiten und freies Wasser in den Muskelsepten erscheinen besonders hell, also signalreich.

Die gewünschte Gewichtung wird durch Einstellung der Messparameter der Pulssequenzen bestimmt, wie der Wiederholungszeit (repetition time TR) und der Echozeit (echo time TE). Die Wiederholungszeit TR ist das Zeitintervall zwischen zwei aufeinanderfolgenden Anregungsimpulsen. Die Echozeit TE ist das Zeitintervall zwischen dem Anregungsimpuls und dem Zeitpunkt des Empfangs. Sowohl TR als auch TE werden in Millisekunden angegeben. Hierbei werden bei der T_1 -gewichteten Bildgebung kurze Echozeiten TE und kurze Repetitionszeiten TR gewählt, um möglichst hohe Bildkontraste zwischen Fett und Wasser zu erzielen. Bei T_2 -gewichteten MR-Bildern benötigt man lange Echozeiten und lange Repetitionszeiten, wohingegen der Kontrast bei PD-gewichteten Bildern am stärksten zu verzeichnen ist, wenn die TR lang und die Echozeit TE kurz gewählt wird.

Bei den in dieser Studie erstellten Bildern handelt es sich einerseits um T_1 -gewichtete und T_2 -gewichtete Magnetresonanzbilder zur Darstellung der Topographie und genauen Positionierung der für die ^1H -MR-Spektroskopie

benötigten VOI (volume of interest) an geeigneter Stelle. Im M. tibialis anterior, der sehr inhomogene Fettstrukturen aufweist, wurde der Bereich zur Positionierung der VOI so gewählt werden, dass möglichst wenig Fettlamellen in diesem Ausschnitt vorhanden waren. Bei M. soleus hingegen, welcher sich als ein Muskel mit konstantem Fettanteil darstellt, war die Positionierung des VOI weniger aufwendig.

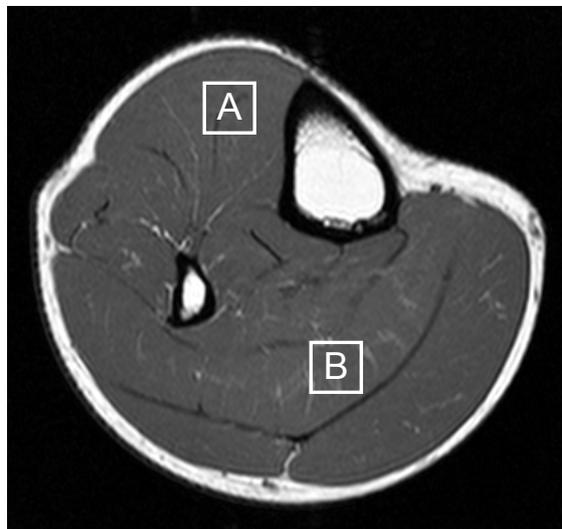


Abb. 1: *T₁-gewichtetes MR-Tomogramm des Unterschenkels im Bereich des größten Querschnitts. Signalarme dunkle Strukturen werden von Muskelgewebe, bindegewebige Septen und der Substantia compacta des Knochens gebildet. Signalreich (hell) erscheint das subkutane Fettgewebe, Knochenmark und Fettsepten.*

Platzierung der VOI, wobei A den M. tibialis anterior und B den M. soleus anzeigt

2.1.3 Volumenselektive Protonen-Magnetresonanz-Spektroskopie (^1H -MRS)

Mit der in-vivo-MR-Spektroskopie steht ein nicht-invasives, chemisch-analytisches Verfahren zur Verfügung, das Informationen über Substanzkonzentrationen in tieferliegenden Bereichen des Organismus, Stoffwechselforgänge und pathobiochemische Marker im menschlichen Körper geben kann. Die Grundlage für die MR-Spektroskopie ist, dass sich das magnetische Moment eines Atomkerns in einem Molekül unterschiedlich verhält, je nachdem an welcher Position im Molekül es sich befindet. Ebenso spielt die Umgebung des Moleküls und die Bindungsverhältnisse im Molekül selbst eine entscheidende Rolle. Hierdurch entstehen lokale Veränderungen des Magnetfeldes, welche zu einer veränderten Resonanzfrequenz führen. Durch diese Änderung der Resonanzfrequenz lassen sich unterschiedliche Signale gleicher Atomkerne in anderen Molekülverbindungen darstellen, und somit können unterschiedliche biochemische Stoffwechselprodukte analysiert werden.

Prinzipiell sind alle Atomkerne mit Kernspin für die MR-Spektroskopie zugänglich, aber nur wenige sind aufgrund ihrer MR-Empfindlichkeit und ihrer Häufigkeit im Körper aus klinischer Sicht überhaupt einsetzbar. Praktische Bedeutung erlangt haben daher vor allem Signale von Wasserstoffprotonen (^1H) und Phosphor (^{31}P), aber auch Signale von Kohlenstoff (^{13}C), Natrium (^{23}Na) und Fluor (^{19}F) können detektiert werden.

Zur Messung werden heute zwei grundlegende Verfahren eingesetzt:

Single-Voxel- (z.B. STEAM-Sequenzen (Stimulated Echo Acquisition Mode) oder PRESS-Sequenzen (Point Resolved Spectroscopy)) und Multi-Voxel-Sequenzen (z.B. Magnetic Resonanz Spectroscopy Imaging MRSI / Chemical Shift Imaging, CSI). Durch diese Messverfahren ist es möglich, Signale aus einem oder mehreren Volumenelementen zu erhalten, deren Ort und Größe genau vorgegeben werden kann, um somit Aussagen über die Stoffwechselforgänge lokal begrenzter Gebiete zu gewinnen.

Aufgrund des Sequenzdesigns ist das Signal/Rausch-Verhältnis bei der PRESS-Sequenz um den Faktor 2 besser als bei der STEAM-Methode, allerdings können mit der STEAM-Sequenz kürzere Echozeiten erreicht werden. Die erreichbare Echozeit hat Auswirkungen auf die detektierbaren Metaboliten. So sind zum Beispiel die Signale der Metaboliten Glutamin/Glutamat und Myo-Inositol bei einer Echozeit von 135 ms nicht detektierbar. Mit modernen MR-Geräten und schnelleren Gradientensystemen ist es heute möglich, unter Verwendung spezieller HF-Pulse, auch mit der PRESS-Sequenz kurze Echozeiten zu erreichen und damit das bessere Signal/Rausch-Verhältnis auszunutzen.

In der vorliegenden Arbeit wurden die STEAM-Sequenzen verwendet, die nun näher erläutert werden sollen:

Die STEAM-Methode erlaubt eine volumenselektive ^1H -MR-Spektroskopie. Es werden nach schichtselektiver Anregung durch Hochfrequenzimpulse Echos erzeugt (Abb. 2). Dabei werden drei frequenzselektive Hochfrequenzimpulse mit Schichtselektionsgradienten und zueinander orthogonaler Orientierung angewendet. Die Signale der Echos stammen aus der Schnittmenge der drei selektierten Schichten (Volume of Interest, VOI). Bei dieser Methode werden zur Ortsselektion drei 90° -Pulse verwendet, um das stimulierte Echo zu empfangen. Die STEAM-Sequenz erlaubt kürzere Echozeiten, da zwischen dem zweiten und dritten Puls (TM-Intervall) nur die Längsrelaxation relevant ist. Die minimalen Echozeiten betragen daher bei Ganzkörpergeräten circa 10 ms. Dies ist vor allem von Vorteil, wenn Metaboliten erfasst werden sollen, die sehr kurze T_2 -Zeiten haben, also relativ schnell in ihre ursprüngliche Ausgangslage zurückkehren. Um unerwünschte Signale aus dem freien Induktionsabfall der Einzelimpulse auszuschalten, werden zusätzlich weitere Gradientenschaltungen, sogenannte Spoil-Gradienten verwendet.

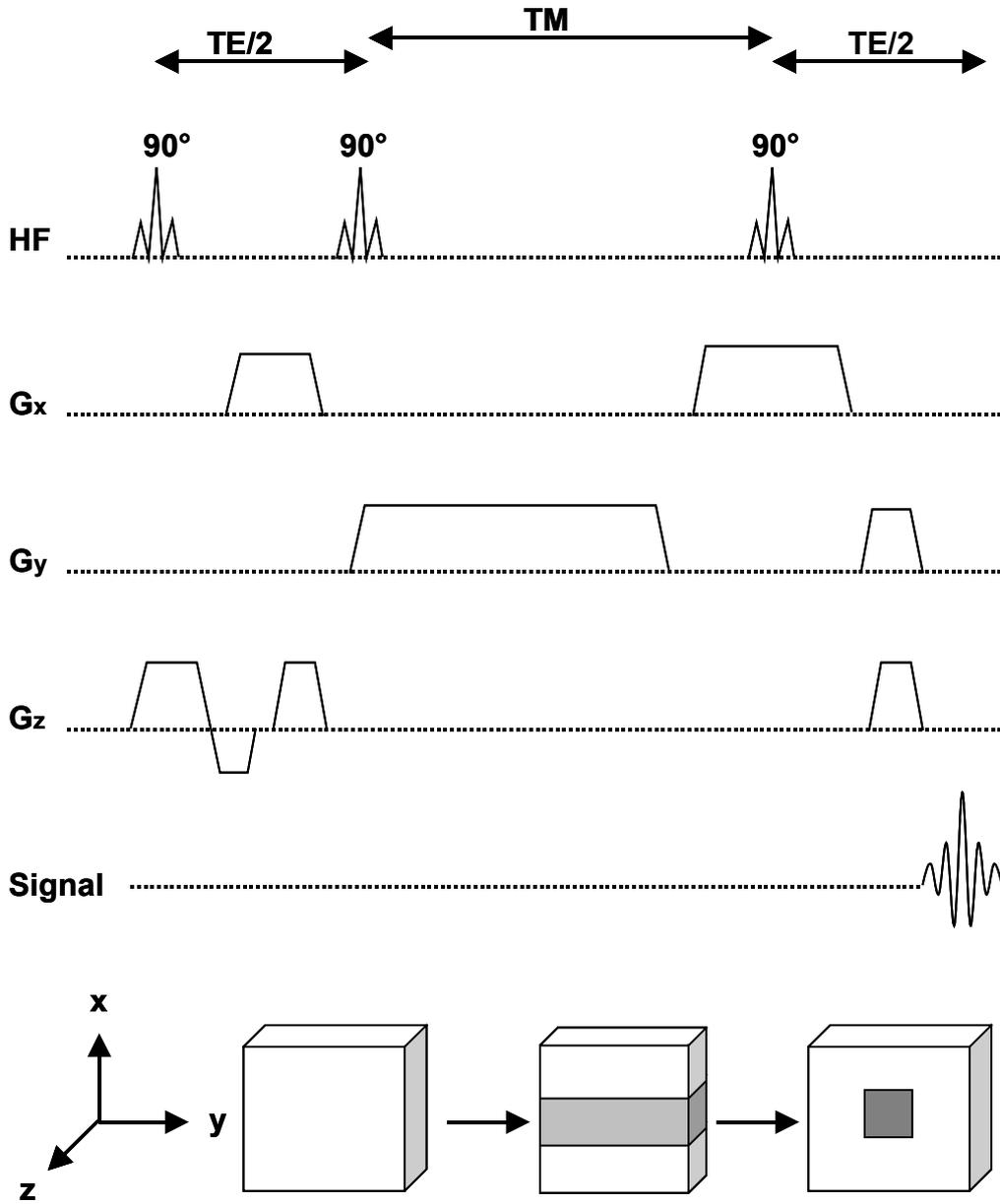


Abb. 2: Aufnahmeschema einer STEAM-Sequenz mit drei 90° -Pulsen

2.1.4 Nicht-invasive Bestimmung intramyozellärer Lipide mittels ^1H -MRS

Die ^1H -MR-Spektroskopie hat sich als eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung des Lipidstoffwechsels in der Muskulatur herausgestellt (7,72). Dabei zeigen die Magnetresonanz-Spektren der Muskulatur, die im Vergleich mit Spektren anderer fettreicher Gewebearten, wie z.B. die des gelben Knochenmarks oder des Unterhautfettgewebes, mehrere und andersartige Signale auf.

Das dominierende Signal der MR-spektroskopischen Untersuchungen der Skelettmuskulatur ist das Wassersignal. Alle anderen Metaboliten erscheinen mit weniger als 10% sehr viel kleiner. Neben dem Wassersignal (4,8 ppm) erscheint in den Muskelspektren in der Regel als zweithöchstes das Lipidsignal. Methylen- (CH_2) und Methylprotonen (CH_3) der Fettsäuren und Triglyzeride erzeugen Signale im Bereich von 0,8 - 2,8 parts per million (ppm) (10,16,71). Bei wasserunterdrückten Spektren tragen zur Signalgebung unter anderem Lipide, Methyl- (Cr_3) und Methylengruppen (Cr_2) des Creatins, Trimethylammonium (TMA) enthaltende Komponenten mit Signalen von Carnitin (Ct), Cholin (Cho) und Taurin (Tau) bei (Abb. 4). Des weiteren können bei 7,0 - 8,0 ppm kleine Histidinprotonen-Signale von Carnosin (Cs) quantifiziert werden.

Im Gegensatz zu Spektren des gelben Knochenmarks gibt es in der Skelettmuskulatur zwei Lipidkomponenten (Abb. 3). Die unterschiedlichen Lipid-Resonanzen mit einer Frequenzverschiebung von 0,2 ppm wurden erstmals im Jahre 1993 von Schick et al. erwähnt (72). Dabei wurde festgestellt, dass das Signal mit der höheren Resonanzfrequenz Lipide der Adipozyten, und das andere Signal mit niedrigerer Resonanzfrequenz Lipide mit ähnlicher Zusammensetzung darstellen, die sich allerdings intramyozellulär befinden. Nachfolgend wurden diese Ergebnisse im Jahre 1997 von Boesch et al. näher verifiziert und als extramyozelluläre (EMCL) und intramyozelluläre (IMCL) Lipide bestimmt (7).

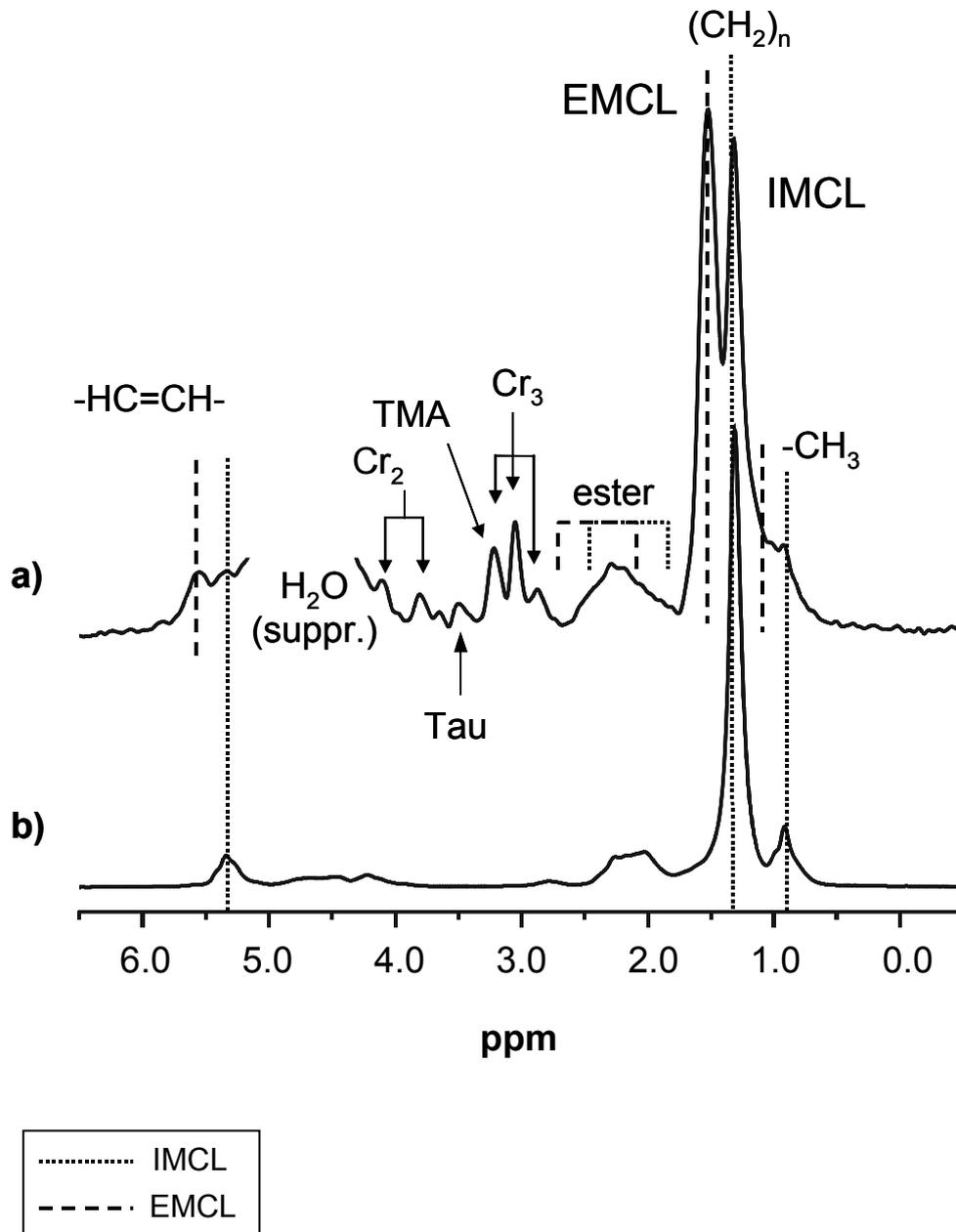


Abb. 3: a) wassersupprimiertes MR-Spektrum des *M. tibialis anterior*
 b) MR-Spektrum des gelben Knochenmarks der Tibia

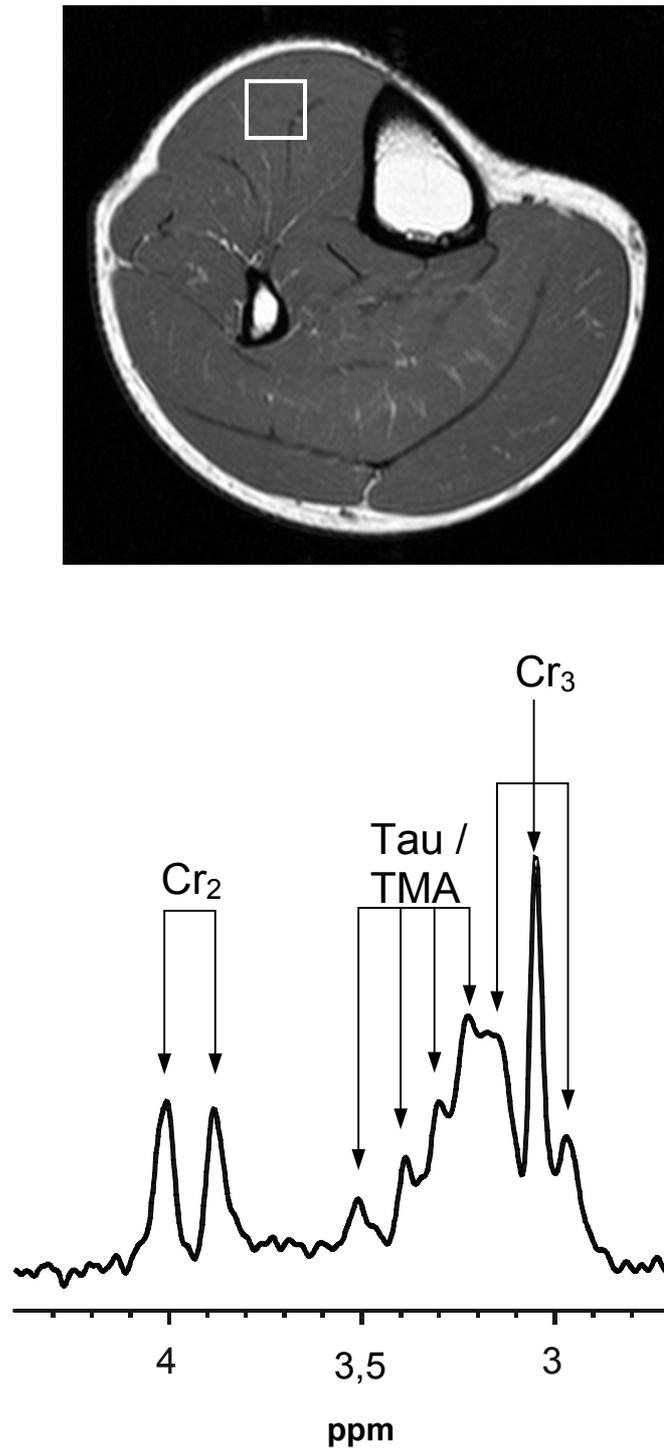


Abb. 4: Oben T_1 -gewichtetes MR-Tomogramm des Unterschenkels im Bereich des größten Querschnitts.

Unten das entsprechende Magnetresonanzspektrum mit typischer Signalverteilung in der TMA-Region des *M. tibialis anterior*.

Neben der suszeptibilitätsbedingten Larmfrequenz-Verschiebung der Lipidkomponenten spielen auch weitere Effekte eine Rolle, die zu einer Orientierungsabhängigkeit in der Spektroskopie führen, die sogenannten dipolaren Kopplungen.

Wichtige Effekte bei der MR-Spektroskopie hat auch die Anordnung der Muskelfasern zum statischen homogenen Magnetfeld B_0 . Untersuchungen haben gezeigt, dass bei paralleler Anordnung der Muskelfasern zum B_0 -Feld die Signale des Creatins (Cr_2) am stärksten aufgespalten werden, wohingegen bei der Ausrichtung mit einer Drehung von 55° die beide Signale verschmelzen (45,46). Die Konzentration von Creatin ist innerhalb einer Muskelgruppe gleichmäßig verteilt und ist von der Insulinsensitivität der Skelettmuskulatur unabhängig. Jedoch zeigen unterschiedliche Konzentrationen bezüglich des Muskeltyps (11).

Mit Ausnahme des Wassersignals und des IMCL-Signals sind alle anderen Peaks bei der 1H -MR-Spektroskopie der Muskulatur abhängig von der Orientierung (9). Das dominante Wassersignal kann durch einen selektiven Vorpuls unterdrückt werden, wodurch die Signale auf der Flanke besser dargestellt werden können, ohne diese in der Größe zu beeinträchtigen (12). Dadurch werden die für die Untersuchung relevanten Signale, wie das des IMCL (1,2 ppm), des Cholins (3,2 ppm) und des Creatins (3,05 ppm) deutlich sichtbar (Abb. 5). Da das Verhältnis von Methyl (CH_3) und Methylen (CH_2) in den Fettsäuren in der Regel gleich ist, und die CH_3 -Signale nur sehr schwer in den intramyozellulären und extramyozellulären Signalen abzugrenzen sind, ist es möglich, die Auswertung des Lipidgehaltes isoliert auf die Methylen-Signale der EMCL und IMCL zu beschränken. Allerdings ist die Unterscheidung von IMCL und EMCL im M. soleus durch seine gefiederte Strukturierung nur sehr schwer möglich, da die Auflösung der Lipidsignale in IMCL und EMCL mit der Anordnung der Muskelfasern im B_0 -Feld korreliert (12). Die parallele Ausrichtung des Unterschenkels zum B_0 -Feld zeigt im M. tibialis anterior hingegen eine gute Differenzierbarkeit der IMCL und EMCL.

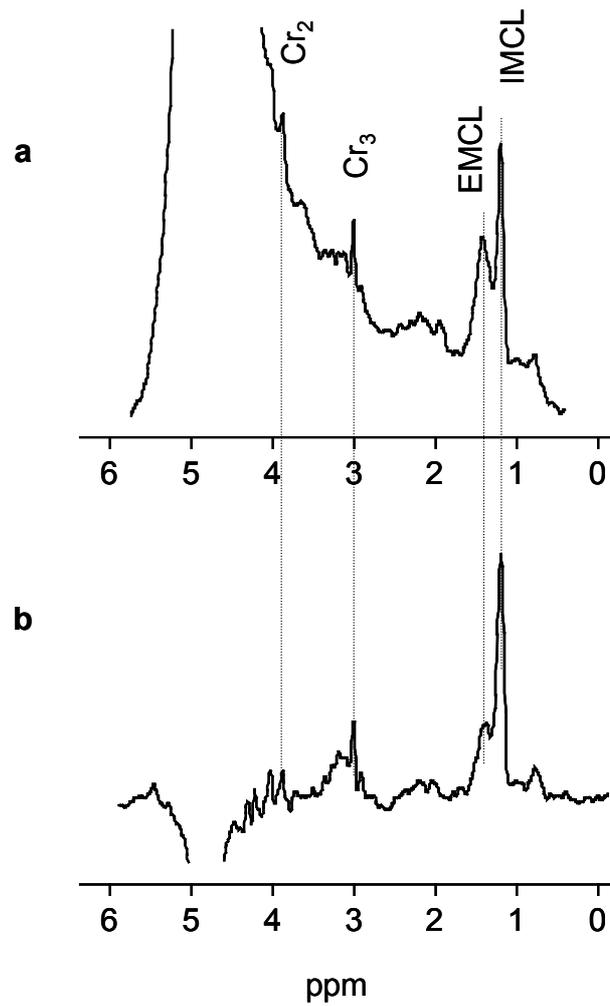


Abb. 5: *Abbildung 5 a) zeigt das Magnetresonanzspektren ohne Wasserunterdrückung und b) mit Wasserunterdrückung. Deutlich zu erkennen ist, dass bei den Spektren mit Wasserunterdrückung das Creatinsignal aus der Flanke des Wassersignals hervortritt.*

2.1.5 Vergleich der ^1H -MR-Spektroskopie bei 1,5 T und 3 T

Schwierigkeiten ergaben sich bisher bei der herkömmlichen Messung mit 1,5 Tesla, da sich die Signale der intramyozellulären und extramyozellulären Lipide in Abhängigkeit der Muskelfaserorientierung mehr oder weniger stark überlappen und sich somit nicht vollständig separieren lassen können.

Durch die Verwendung einer höheren Feldstärke von 3 Tesla ist es im Bereich der MR-Spektroskopie der Muskulatur möglich geworden, kleinere Volumeneinheiten (VOI) anzuwenden. Dadurch konnte eine bessere Separierung der Lipidkompartimente erzielt werden. (Abb. 7)

Magnetische Dipole richten sich in einem homogenen statischen Magnetfeld B_0 so aus, dass einige Spins parallel und andere antiparallel zum statischen Feld ausgerichtet sind. Bei einer Temperatur von 37°C entsteht bei 1,5 T zum Beispiel nur ein Überschuss von $5:1.000.000$ ^1H -Protonen, welche eine messbare makroskopische Gesamtmagnetisierung M erzeugen. Wird nun ein stärkeres äußeres Magnetfeldern mit 3 T Feldstärke verwendet, so verdoppelt sich diese Menge auf $10:1.000.000$ Überschuss von entlang dem äußeren Magnetfeld ausgerichteten parallelen Kernen gegenüber den antiparallelen. Diese höhere makroskopische Magnetisierung führt zu einer höheren Signalausbeute nach einer HF-Anregung bei 3 T. Das Rauschen hingegen ist nicht von der Feldstärke abhängig und bleibt somit bei höherer Feldstärke gleich. Durch ein höheres Signal/Rausch-Verhältnis ist es z.B. möglich, kleinere Volumeneinheiten bei gleichbleibender Qualität zu messen. Bei unverändertem Signal/Rausch-Verhältnis kann aber auch die Messzeit verkürzt werden. Die Larmorfrequenz aller Atomkerne ist linear proportional zur von extern zugeführten Feldstärke. Bei höherer Magnetfeldstärke muss der HF-Puls angepasst werden und das Magnetresonanzsignal weist eine höhere Frequenz auf, dessen Wellenlänge sich bei höheren Feldstärken verkürzt.

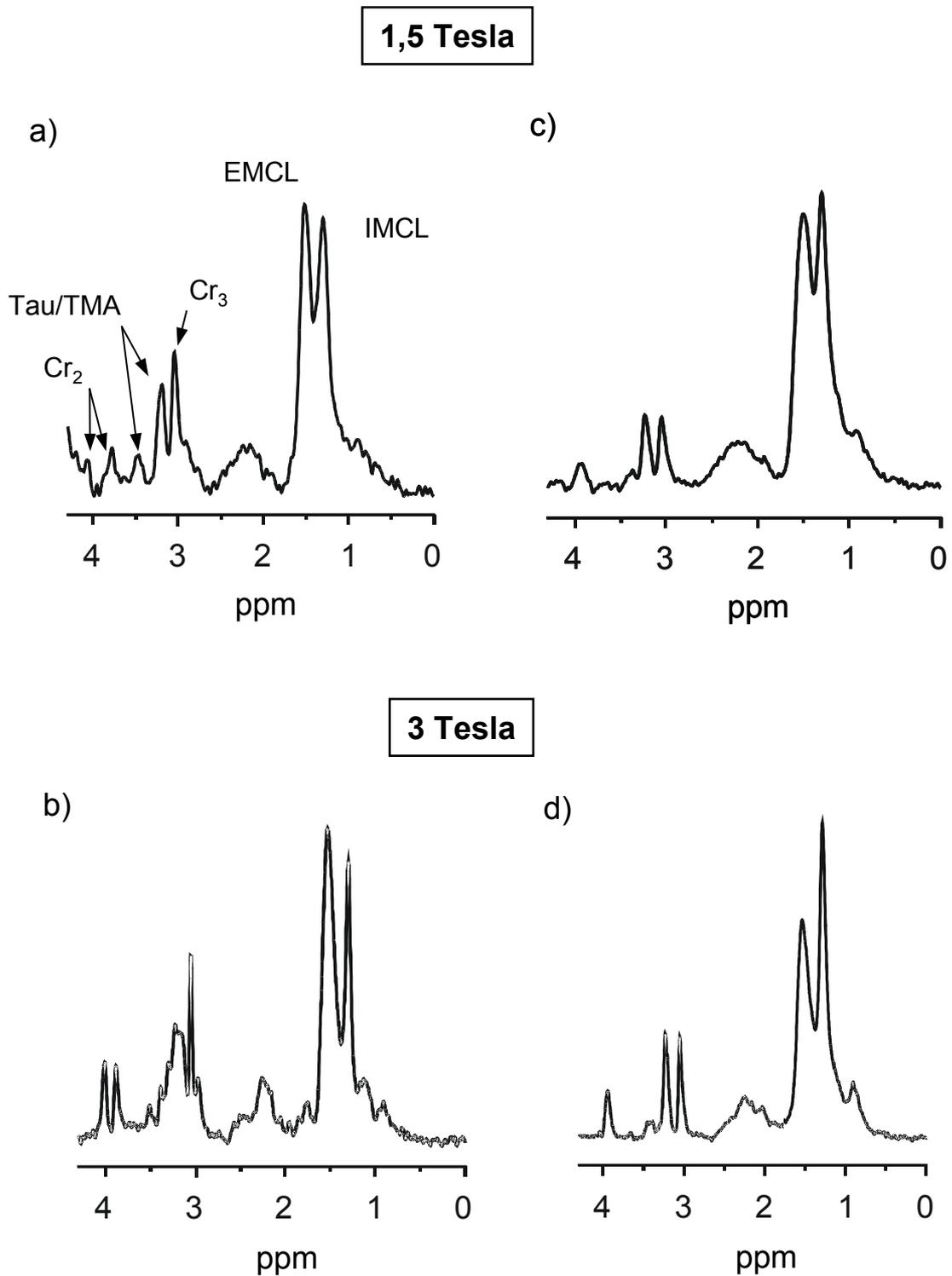


Abb. 6: a) zeigt das Magnetresonanzspektrum des *M. tibialis anterior* bei 1,5 T und b) bei 3 T
c) zeigt das Spektrum des *M. soleus* bei 1,5 T und d) bei 3 T

Die chemische Verschiebung beschreibt die Verschiebung der Resonanzfrequenz eines Kerns in Abhängigkeit von seiner chemischen Bindung in einer Molekülstruktur. Die Abschwächung des angelegten Magnetfeldes durch die Elektronenhülle ist proportional zur Magnetfeldstärke. Die Unterschiede der Larmorfrequenz verschiedenen Kernen bezüglich deren unterschiedlicher chemischen Bindung steigt linear mit der Feldstärke an. So beträgt die chemische Verschiebung zwischen dem Wassersignal und dem Methylensignal 220 Hz bei 1,5 Tesla und bei 3 Tesla 440 Hz, verdoppelt sich also.

Ist die Homogenität eines statischen Feldes in einem Gewebe sehr hoch, hängt die Linienbreite der Spektroskopie nur von der transversalen Relaxationszeit T_2 ab und nicht von der Feldstärke, sie bleibt folglich bei 3 T fast unverändert. Zum Beispiel wird die Linienbreite des IMCL- oder Creatinsignal bei 3 T durch Inhomogenität des Feldes nur unwesentlich verbreitert. Andererseits neigt die Linienverbreiterung durch suszeptibilitätsbedingte Effekte eines inhomogenen Feldes (EMCL-Signal) dazu, proportional mit der applizierten Feldstärke anzusteigen (73).

Dies zeichnet sich durch eine signifikant schmalere Linienbreite des CH_2 -Signals von IMCL bei nahezu unveränderten suszeptibilitätsbedingten Linienbreiten des EMCL-Signals aus. Des weiteren konnte bei muskelspektroskopischen Aufnahmen des M. tibialis anterior im Gegensatz zum M. soleus eine deutlich höhere Amplitude der CH_2 -Fraktion des Creatins bei 3,95 ppm gezeigt werden. Außerdem kann durch die Verkleinerung des VOI mit weniger als 1 ml die Signalausbeute wesentlich verbessert werden, und das für die Auswertung störende EMCL-Signal kann durch exakte Platzierung in einem Bereich ohne sichtbare Fettsepten eliminiert werden (52). Dies wird exemplarisch für den M. soleus in Abbildung 7 dargestellt:

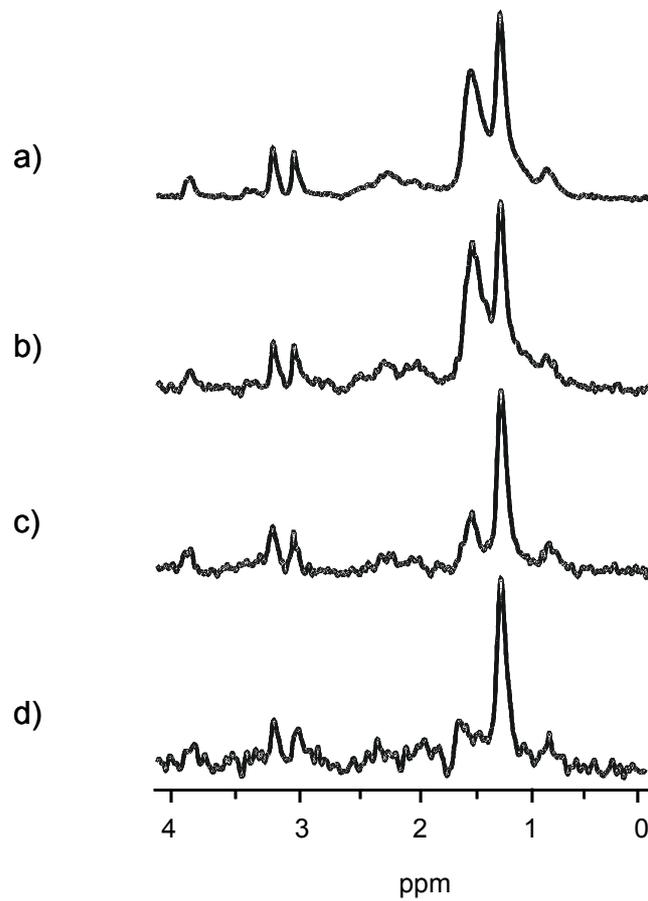
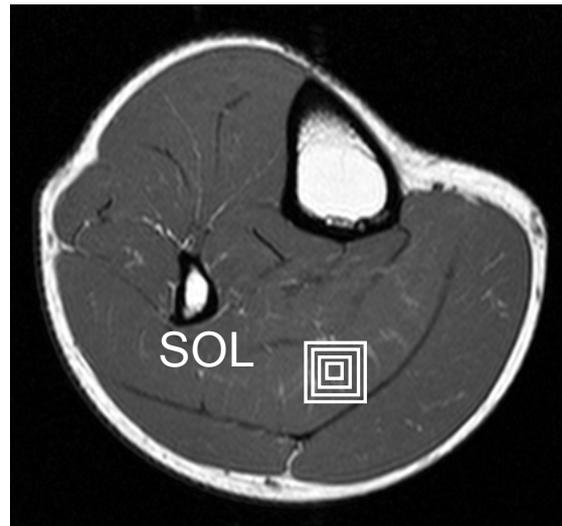


Abb. 7: Darstellung der Verkleinerung der VOI im M. soleus bei 3 Tesla.

a) mit einer Volumengröße von $11 \times 11 \times 20 \text{ mm}^3$ (40 Akq.), b) $9 \times 9 \times 18 \text{ mm}^3$ (48 Akq.),
c) $5 \times 5 \times 10 \text{ mm}^3$ (64 Akq.) und d) mit $5 \times 5 \times 10 \text{ mm}^3$ (80 Akq.)

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass höhere Feldstärken hauptsächlich zwei Vorteile bieten:

Zum einen kann eine höhere Signalintensität bei vorgegebenem Volumen pro Messeinheit detektiert werden. Zum anderen können durch Chemical Shift mehr Liniensignale in den Spektren differenziert werden, so beruhen z.B. die Effekte der Signalaufspaltungen der Tau/TMA/Cr₂-Regionen möglicherweise auf orientierungsabhängigen dipolaren Kopplungen und treten deshalb nur im M. tibialis anterior auf, in dem die Muskelfasern parallel zur Beinachse und somit zum B₀-Feld liegen. (Abb. 8)

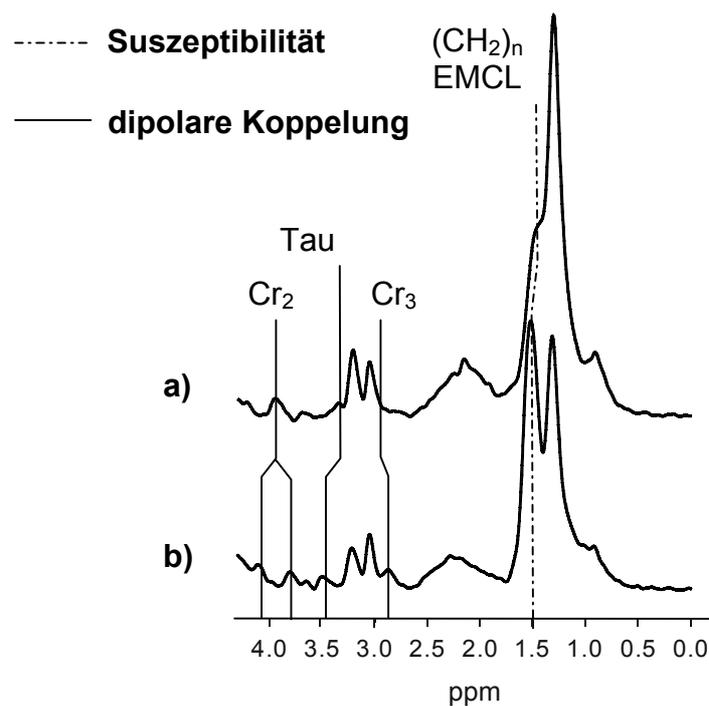


Abb. 8: MR-Spektren des *M. soleus* und *M. tibialis anterior*, wobei die suszeptibilitätsbedingten Effekte sowie dipolare Kopplung gezeigt werden.

2.2 *Metabolische Untersuchungen und anthropometrische Daten*

2.2.1 *Body-Mass-Index (BMI)*

In dieser Studie wurden insulinsensible normalgewichtige männliche Probanden rekrutiert, die einen Body-Mass-Index von 20 – 25 kg/m² haben. Dieser Body-Mass-Index (BMI) eignet sich zur Darstellung des Verhältnisses von Körpergewicht zu Körpergröße.

Studiengruppen stellten den Zusammenhang der Muskellipide mit dem Body-Mass-Index dar (28,37,80,81). So konnte Frouhi et al. (28) nachweisen, dass der IMCL-Gehalt im M. soleus bei Europäern positiv mit dem BMI korreliert. Auch Hwang et al. stellten die Beziehung zwischen gleichzeitig hohem BMI und hohem EMCL-Gehalt im Vergleich zum IMCL-Gehalt dar, welcher wiederum mit der oxidativen Funktion des Muskels und dessen Muskelfasertyp korreliert (37). Weiter konnte festgestellt werden, dass die Insulinsensitivität stark mit dem Fettanteil an der Gesamtkörpermasse korreliert (26,32).

Neben dem Ausmaß des Übergewichtes, welches über den BMI erfasst wird, bestimmt das Fettverteilungsmuster das metabolische und kardiovaskuläre Gesundheitsrisiko. Die viszerale und abdominelle, stammbetonte Fettmasse korreliert besonders eng mit kardiovaskulären Risikofaktoren und Komplikationen.

Der Body-Mass-Index (syn. Quetelet-Index) ist eine international gültige Verhältniszahl zur Beurteilung des Körpergewichtes bezüglich der Körpergröße. Die Ermittlung erfolgt mit Hilfe eines Normogramms oder der Berechnung mit folgender Formel:

$$\text{BMI} = \frac{\text{Körpergewicht (kg)}}{(\text{Körpergröße (m)})^2}$$

Die berechneten Werte lassen sich mit der unten aufgeführten Tabelle beurteilen:

Gewichtsklasse	BMI Männer	BMI Frauen
Untergewicht	< 20	< 19
Normalgewicht	20 -25	19 - 24
Übergewicht	25 -30	24 - 30
Adipositas	30 - 40	30 - 40
Adipositas permagna	> 40	> 40

Tab.1: Normwerte des Body-Mass-Index in kg/m^2

2.2.2 Bestimmung der maximalen aeroben Kapazität (VO_2max)

Einige Studien hatten gezeigt, dass die Beziehung zwischen der Insulinsensitivität und den intramyozellulären Lipiden durch die maximale aerobe Kapazität beeinflusst wird (31,88). Die individuelle Leistungsfähigkeit der Probanden wurde über die maximale aerobe Kapazität (VO_2max) ermittelt. Die Untersuchung erfolgte mit Hilfe eines Mittelzeittests und soll nachfolgend näher beschrieben werden:

Die Untersuchung wurde auf einem Fahrradergometer (Ergometrics 800 S; Ergoline, Bitz, Deutschland) durchgeführt. Die Tests beanspruchen zur Energielieferung hauptsächlich das glykolytische System, das in dieser Zeit bis zu 70% der benötigten Energie zur Verfügung stellt. Die Aktivierung des glykolytischen Systems lässt sich am Anstieg der Laktatkonzentration im Blutplasma ablesen. Da die Bestimmung des produzierten Laktats schwierig ist, behilft man sich bei diesem Test der Messung der Sauerstoffschuld, welche als Maß der aeroben Kapazität dient.

Als ideales Maß für die Leistungsfähigkeit gilt die maximale Sauerstoffaufnahme pro Zeiteinheit (VO_{2max}), bezogen auf das Körpergewicht. Außer der Sauerstoffaufnahme (VO_2) werden die CO_2 -Ausscheidung (VCO_2), die Herzfrequenz, das Atemminutenvolumen (AMV) und der respiratorische Quotient (RQ) mittels eines Spiroergometers (MedGraphics System Brees Ex 3.02 A; MedGraphics) gemessen.

Initial wurde eine Aufwärmphase von zwei Minuten bei 0 Watt (W) durchgeführt. Mit einer niedrigen Belastung von 20 Watt auf dem Fahrradergometer beginnend wird nach jeweils 1 Minute der Bremswiderstand um 40 Watt erhöht. Die Probanden wurden aufgefordert, während der gesamten Messzeit mit einer mittleren Pedaltrate von 60 rpm (rates per minute) zu fahren. Auf jeder Leistungsstufe sollen sich die Messgrößen auf den Folgewert einstellen, und der Ermüdungsrückstand aus der vorangegangenen Belastungsstufe sollte nicht zu hoch sein, sodass eine Weiterführung des Tests möglich ist. Erreichen die Sauerstoffaufnahme oder die Herzfrequenz auf einer Belastungsstufe einen Wert, der trotz einer weiteren Steigerung des Bremswiderstandes nicht erhöht werden kann, ist der Proband ausbelastet (43). Für die Bestimmung der VO_{2max} , angegeben als VO_2 (ml/min)/kg Körpergewicht, wurde ein RQ von 1,1 und ein VO_{2max} -Plateau mit einer Zunahme von < 300 ml/min während der Belastung festgelegt.

2.2.3 Oraler Glukose-Toleranz-Test

Für den Nachweis einer normalen Glukosetoleranz und zum Ausschluss einer Insulinresistenz wurde bei allen Probanden ein oraler Glukose-Toleranz-Test (oGTT) durchgeführt.

Die Probanden waren zu Beginn der Untersuchung nach einer zwölfstündigen nächtlichen Nahrungskarenz nüchtern. Anschließend erhielt jeder der Probanden eine Venenverweilkanüle in die Ellenbeugenvene, über welche die Blutabnahmen erfolgten. Die basale Blutabnahme zur Nüchternwert-Bestimmung von Glukose und Insulin folgte. Danach mussten die Probanden 300 ml Glukoselösung (OGTT Lösung, Boehringer Mannheim) trinken, was einer Gesamtmenge von 75 g Glukose entspricht. Nach 30, 60, 90 und 120 Minuten wurde wiederum Blut abgenommen und ebenfalls der Glukose- und Insulinwert bestimmt. Die Blutglukosewerte wurden mit einem Blutzuckermessgerät (glucose oxidase method; Yellow Springs Instruments, Yellow Springs) bestimmt. Die Messung des Seruminsulins wurde mit Hilfe eines Enzymimmunoassay (Abbott, Wiesbaden) und die Serumkonzentration der C-Peptide mittels Radioimmunoassay (Byk-Sangtec Diagnostika, Dietzenbach) untersucht.

	nüchtern	nach 60 min	nach 120 min
Normale Glukosetoleranz	≤ 110 mg/dl	≤ 200 mg/dl	≤ 140 mg/dl
Pathologische Glukosetoleranz	110 – 125 mg/dl	≥ 200 mg/dl	140 – 200 mg/dl
Diabetes mellitus	≥ 125 mg/dl	≥ 200 mg/dl	≥ 200mg/dl

Tab. 2: Diagnostische Richtwerte zur Feststellung einer gestörten Glukosehomöostase mittels oralem Glukosetoleranztest

Die Insulinsensitivität des menschlichen Körpers kann anhand der euglykämischen, hyperinsulinämischen Glucose-Clamp-Technik direkt ermittelt werden. Die weit verbreitete Untersuchung mittels oGTT, welche im Gegensatz zur Glucose-Clamp-Technik technisch einfacher durchzuführen ist, stellt nur eine indirekte Messung der Insulinsensitivität dar. Der Zusammenhang zwischen dem oralen Glukosetoleranztest und der Insulinsensitivität kann allerdings, wie auch in unserer Studie durchgeführt, anhand des sogenannten Insulin-Sensitivitäts-Index (ISI) nach Matsuda ermittelt werden (55).

2.3 Studiendesign

2.3.1 Probandenkollektiv

Die für die vorliegende Arbeit rekrutierten Probanden wurden gemäß den Auflagen der Ethikkommission der Universität Tübingen aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis für die durchgeführten Untersuchungen. Die im Rahmen des Versuchs benötigten metabolischen Untersuchungen wurden von der Abteilung Innere Medizin IV der Universitätsklinik Tübingen durchgeführt und für diese Arbeit zur Verfügung gestellt. Angegeben sind im folgenden der Mittelwert \pm Standardabweichung.

Die Teilnehmergruppe bestand aus zwölf normalgewichtigen Männern im Alter zwischen 22 und 37 Jahren (Alter $25,8 \pm 4,5$ Jahre) und einem Body-Mass-Index zwischen 18,7 und 25 kg/m^2 (BMI $22,1 \pm 1,8$ kg/m^2).

Die Probanden wiesen im Rahmen des oralen Glukose-Toleranz-Tests (oGTT) eine normale Glukosetoleranz auf und wurden demnach als insulinsensibel eingestuft.

Die Belastungsstärke, welche mittels der maximalen aeroben Kapazität (VO_2max in $\text{ml}/[\text{kg} \times \text{min}]$) ermittelt wurde, zeigte sich bei allen Probanden

ähnlich und im normalen Rahmen ($VO_{2max} = 47,0 \pm 6,43$ ml/[kg x min]). Die Werte der maximalen aeroben Kapazität wurde altersspezifisch verglichen (VO_{2max} in %).

Bei keinem der Probanden waren in der Anamnese Vorerkrankungen festzustellen, keiner der Teilnehmer nahm regelmäßig Medikamente ein.

Die nachfolgende Tabelle bietet einen Überblick der ermittelten Werte im einzelnen. (Tab. 3)

<i>Proband Nr.</i>	<i>Alter</i>	<i>Body-Mass-Index</i>	<i>VO₂max in ml/(kg x min)</i>	<i>VO₂max in %</i>
1	22	22,3	48,9	110,8
2	25	20,9	50,6	98,7
3	25	18,7	53,3	128,6
4	25	24,8	48,2	116,3
5	25	22,8	35,6	85,9
6	29	25,0	36,5	91,5
7	23	23,1	41,7	98,9
8	23	20,7	52,7	112,9
9	31	21,0	51,4	131,2
10	23	22,8	52,3	125,2
11	37	22,7	51,5	139,4
12	21	20,5	41,7	96,4

Tab. 3: Dargestellt sind das Alter (Jahre), der BMI (kg/m^2) und die maximale aerobe Kapazität der Probanden.

2.3.2 Untersuchungsprotokoll

Die MR-Untersuchungen wurden an einem 3-Tesla-Ganzkörpertomographen (Magnetom Trio; Siemens Medical Solutions, Erlangen) durchgeführt. Eine zirkular polarisierende Volumenspule (Standard-Extremitätenspule; Siemens Erlangen) wurde zum Einstrahlen der Hochfrequenzimpulse und zum Auslesen der Signale verwendet.

Die erste Untersuchung des Tages fand am frühen Morgen statt, nachdem sich die Probanden nüchtern in der Sektion für Experimentelle Radiologie der Universitätsklinik Tübingen eingefunden hatten. Dazu wurde der Unterschenkel in bequemer Stellung auf einer Schaumstoffunterlage fixiert, um möglichst Bewegungen zu vermeiden. Nachdem T₁-gewichtete Querschnittsbilder des proximalen Unterschenkels mittels Platzierung der Hochfrequenzspule im Bereich des größten Querschnitts des Unterschenkel aufgenommen wurden, erfolgte anhand dieser Bilder die Platzierung der Volume of Interest (VOI). Die Messstelle wurde mit einem wasserfesten Stift markiert, um am Abend dieselbe Messposition zu erhalten.

Die spektroskopischen Untersuchungen mit der STEAM-Sequenz wurden zum einen im M. tibialis anterior und zum anderen im M. soleus durchgeführt. Dabei bot der M. tibialis anterior das Bild eines inhomogenen Fettlamellensystems. Im Gegensatz dazu war der M. soleus gleichmäßig mit Fettlamellen durchzogen. Die Positionierung der VOI wurde deshalb im M. tibialis anterior an einer fettarmen Stelle festgelegt. Die Größe der VOI betrug in beiden Muskelgruppen 2,4 cm³ (11 mm x 11 mm x 20 mm). Bei der Untersuchung wurde eine Repetitionszeit TR von 2 s verwendet und eine Echozeit TE von 10 ms, um Signalverluste durch transversale Relaxationsprozesse zu vermeiden. Die Zahl der Akquisitionen wurde auf 40 festgelegt um ein ausreichendes Signal/Rausch-Verhältnis zu erhalten, wobei die Akquisitionsdauer pro Spektrum 80 Sekunden dauerte.

Das dominante Wassersignal wurde durch einen selektiven Sättigungspuls unterdrückt, um die relevanten Signale besser darstellen und auswerten zu können.

Untersucht wurde der IMCL-Gehalt an einem Tag im M. tibialis anterior und im M. soleus jeweils nüchtern am frühen Morgen, sowie zwölf Stunden später mittels volumenselektiver Spektroskopie. Die Untersuchung dauerte für jeden Probanden circa 40 Minuten. Die Pause zwischen den einzelnen Untersuchungstagen betrug jeweils eine Woche. Nach der morgendlichen Untersuchung erhielt jeder Proband Instruktionen über sein weiteres Verhalten an diesem Tag. Im Laufe des Tages wurden die Probanden jeweils angehalten, folgende Ernährungs- und Bewegungsprotokolle zu beachten und die ihnen zur Verfügung gestellte Kost zu sich zu nehmen:

1. *Woche:* Fasten, nur Wasser und ungesüßter Tee durfte getrunken werden; keine sportliche Aktivität und überwiegend sitzende Tätigkeiten.
2. *Woche:* Normalkost mit ~ 60% Kohlenhydrate und ~ 20% gesättigten Fetten; keine sportliche Aktivität und überwiegend sitzende Tätigkeiten.
3. *Woche:* fettreiche Kost mit ~ 60% gesättigten Fetten und ~ 30% Kohlenhydraten; keine sportliche Aktivität und überwiegend sitzende Tätigkeiten.
4. *Woche:* mäßige körperliche aerobe Belastung (zügiges Gehen/Walking) mit ~ 55 - 65% der VO_2 max für die Dauer von 120 Minuten vor der abendlichen Messung. Normalkost, orientierend am Ernährungsplan des 2. Untersuchungstags.

In Zusammenarbeit mit der Ernährungsberatung der Universitätsklinik Tübingen wurden die Tagespläne für die Untersuchung mit Normalkost und fettreicher Diät erstellt. Diese gestalteten sich wie folgt:

Tagesplan Normalkost:

	<i>Proteine in g</i>	<i>Fett in g</i>	<i>Kohlenhydrate in g</i>	<i>Brennwert in kcal</i>
Frühstück:				
Vollkornbrot	6,0	1,2	42,0	203
Marmelade	0	0	17,0	80
fettreduzierter Käse	14	8,5	0	130
Joghurt 1,5% Fettanteil	6,8	3,2	9,2	94
Mittagessen:				
Spaghetti mit Tomatensoße	9,8	5,6	44,4	268
und gemischtem Salat	2,8	6,3	14,5	128
500 ml Orangensaft	3,5	0	45,0	220
Nachmittag :				
Banane	1,0	0	16,0	70
Nektarine	1,0	0	16,0	70
Apfel	0	0	12,0	49
Abendessen:				
Vollkornbrot	6,0	1,2	42,0	203
Putensalami	8,8	9,6	0	123
Tomate, Gurke	1,0	0	2,0	20
Gesamt:	Ø 60,7	Ø 35,6	Ø 260,1	Ø 1658

Tab. 4: Tagesplan Normalkost

Tagesplan fettreiche Kost

	<i>Proteine in g</i>	<i>Fett in g</i>	<i>Kohlenhydrate in g</i>	<i>Brennwert in kcal</i>
Frühstück:				
2 Weizenbrötchen	8,4	2,0	55,6	258
Butter	0,2	8,0	0,2	75
Nussnougatcreme	0	6,3	11,7	107
Mittagessen:				
Maultaschen in Fleischbrühe	33,0	42,3	73,6	779
Nachmittag :				
Sahnepudding	4,6	7,6	32,0	218
Abendessen:				
Tiefkühl-Baguette	13,0	43,0	11,0	321
Zwischendurch:				
100g Schokolade	10,0	34,0	54,0	558
100g geröstete Erdnüsse	26,4	49,4	8,9	586
Gesamt:	Ø 97,4	Ø 205,1	Ø 251,9	Ø 3061

Tab. 5: Tagesplan mit fettreicher Kost

2.3.3 Auswertung

Für die Auswertung wurden die Signale der spektroskopischen Untersuchungen an den beiden Muskeln M. tibialis anterior und M. soleus mit Hilfe einer Gaußfunktion in der Zeitdomäne gefiltert (Zentrum bei 0 ms, Halbwertsbreite bei 150 ms). Nach erfolgter Fouriertransformation wurden die Signale einer konstanten und linearen Phasenkorrektur nullter und erster Ordnung zugeführt. Durch Integration wurden die Signalintensitäten in definierten Integrationsgrenzen bestimmt, wobei die Basislinie jeweils separat festgelegt wurde.

Bei den wasserunterdrückten Spektren, die im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden, diente das Methyl-Signal von Creatin bei 3,05 ppm als interne Referenz zur Skalierung der chemischen Verschiebung und der Signalintensitäten.

Bei der Bestimmung der beiden Lipidsignale (IMCL- und EMCL-Signale) wurde zunächst das Integral (INT) des CH₂-Signals vom Gesamtfettanteil im Bereich von 1,1 – 1,8 ppm festgelegt. Die IMCL- und EMCL-Amplitude wurde mit Hilfe der Bestimmung des IMCL- bzw. EMCL-Maximum und der Festlegung der Basislinie wie nachfolgend berechnet:

$$\text{INT}_{\text{IMCL}} = \text{Amplitude}_{\text{IMCL}} / \text{Amplitude}_{\text{IMCL} + \text{EMCL}} \times \text{INT}_{\text{.(CH}_2 \text{ ges. Fett)}}$$

$$\text{INT}_{\text{EMCL}} = \text{Amplitude}_{\text{EMCL}} / \text{Amplitude}_{\text{IMCL} + \text{EMCL}} \times \text{INT}_{\text{.(CH}_2 \text{ ges. Fett)}}$$

Diese Integrale wurden nun bei den wasserunterdrückten Signalen auf das Integral des Creatin bezogen, welches von der Insulinsensitivität unabhängig und im Muskelgewebe gleichmäßig verteilt ist (80). Diese Methode kann bei wasserunterdrückten Spektren durchgeführt werden, weil der von der Unterdrückung betroffene Frequenzbereich von maximal 50 Hz beiderseits der Einstrahlfrequenz keinen Effekt auf den Chemical-Shift Bereich hat, welcher die für die Berechnung notwendigen Daten beinhaltet.

2.4 Statistik

Die Datenbearbeitung wurde durch Herrn Dr. rer. nat. W. Renn (Medizinische Universitätsklinik Tübingen) mitbetreut.

Die statistische Auswertung wurde mit Hilfe des Software Programms SPSS/PC durchgeführt. Die Veränderung der intramyozellulären Lipidwerte während eines Tages unter den unterschiedlichen Bedingungen wurde mittels Varianzanalyse (ANOVA) für wiederholte Messungen dargestellt. Die Daten sind als Mittelwerte \pm SEM (Standard Error of the Mean, Fehler des Mittelwertes) angegeben.

Die dynamische Veränderung des intramyozellulären Lipidgehalts während eines Versuchstages ist als prozentuale Veränderung zwischen morgendlicher und abendlicher Messung dargestellt.

Weiter wurden die beiden diätetischen Maßnahmen (Fasten, fettreiche Ernährung) mit dem Ergebnis bei Normalkost verglichen. Ebenso wurde ein Vergleich zwischen mäßiger aerober Bewegung bei Normalkost mit Normalkost bei geringer körperlicher Belastung aufgestellt. Um diese Vergleiche zwischen den einzelnen Tagesbedingungen darzustellen, und die Unterschiede zwischen jenen hervorzuzeigen, wurden gepaarte t-Tests durchgeführt. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert $< 0,05$ bewertet. Um die Mehrfachvergleiche mit Hilfe der verschiedenen t-Tests auch statistisch korrekt zu interpretieren, wurde die Bonferoni-Korrektur angewandt. Hierdurch erniedrigt sich die Signifikanzgrenze von $p = 0,05$ auf $p = 0,00833$. Mit dieser Grenze können die folgenden Irrtumswahrscheinlichkeiten statistisch korrekt beurteilt werden.

3. Ergebnisse

3.1 Ausgangswerte des IMCL-Gehalts im *M. tibialis anterior* und im *M. soleus*

Die morgendlichen Ausgangswerte der intramyozellulären Lipide an den verschiedenen Tagen wurden bei allen Probanden gemessen. Die intramyozellulären Ausgangswerte des *M. tibialis anterior* wurden mit denen des *M. soleus* verglichen. Dieser Vergleich zeigte, dass der IMCL-Ausgangswert an allen Versuchstagen im *M. soleus* um das zweifache höher ist als im *M. tibialis anterior* (vgl. Tab. 6).

Interessanterweise zeigte sich tendenziell eine Abnahme der IMCL-Ausgangswerte in beiden Muskeln im Verlauf der unterschiedlichen Untersuchungstage. Bei einer einwöchigen Pause zwischen den unterschiedlichen Untersuchungsbedingungen dürfte das jeweilige Untersuchungsprotokoll der Vorwoche jedoch keinen Einfluss mehr haben.

	M. tibialis anterior	M. soleus
Fasten	3,90 ± 0,48	8,20 ± 0,91
Normalkost	3,53 ± 0,48	7,12 ± 0,86
Fetteiche Kost	3,43 ± 0,59	7,51 ± 1,00
Bewegung	3,11 ± 0,57	6,57 ± 0,94

Tab. 6: Morgendliche Ausgangswerte des IMCL-Gehaltes im *M. tibialis* und *M. soleus* an den verschiedenen Untersuchungstagen.

Aufgeführt sind der Mittelwert und Standardfehler des Mittelwertes (SEM)

3.2 Extramyozelluläre Lipide im *M. tibialis anterior* und *M. soleus*

Im Rahmen der Messungen wurde zwar sowohl intramyozellulärer als auch extramyozellulärer Lipidgehalt im Muskelgewebe bestimmt, allerdings ist bei der Auswertung auf die Angabe der extramyozellulären Lipide verzichtet worden. Bereits Brechtel et al. hatten nachgewiesen, dass die Reproduzierbarkeit des extramyozellulären Lipidkompartiments einer größeren Variabilität unterlegen ist. So schwankten die Werte des EMCL/Creatin-Verhältnisses des *M. tibialis anterior* um 40%, die des *M. soleus* hingegen lagen in einem Bereich um 7% (12).

Wie bereits beschrieben ist die Separierung von intra- und extramyozellulären Lipiden im *M. soleus* durch seine gefiederte Strukturierung nur sehr schwer möglich, da die Auflösung der Lipidsignale in IMCL und EMCL mit der Anordnung der Muskelfasern im B_0 -Feld korreliert. Die parallele Ausrichtung des Unterschenkels zum B_0 -Feld zeigt im *M. tibialis anterior* hingegen eine gute Differenzierbarkeit der IMCL und EMCL.

3.3 Korrelationen zwischen intramyozellulärem Lipidgehalt, maximaler aerober Kapazität VO_{2max} und Insulinsensitivitäts-Index (ISI)

Im Rahmen der Auswertung der Ergebnisse konnte eine positive Korrelation zwischen der maximalen aeroben Kapazität (VO_{2max}) und der prozentualen Veränderung des intramyozellulären Lipidgehalts (Δ IMCL) nach körperlicher Belastung bei Normalkost festgestellt werden. Im M. soleus, welcher überwiegend aus Typ I Muskelfasern besteht und seine erforderliche Energie durch den aeroben Abbau der Nährstoffe gewinnt, war diese positive Korrelation zwischen Δ IMCL und maximaler aerober Kapazität VO_{2max} deutlicher zu sehen als im M. tibialis anterior. Aber auch im M. tibialis anterior (Typ II Muskelfasern), welcher seine erforderliche Energie überwiegend über anaeroben Stoffwechsel bezieht und eine geringere oxidative Kapazität als der M. soleus hat, ist eine positive Korrelation zwischen VO_{2max} und IMCL-Reduktion angedeutet (Abb. 9). Es zeigte sich, dass es zu einer geringeren prozentualen Abnahme der IMCL bei trainierten Probanden gekommen war, als bei weniger gut trainierten Personen.

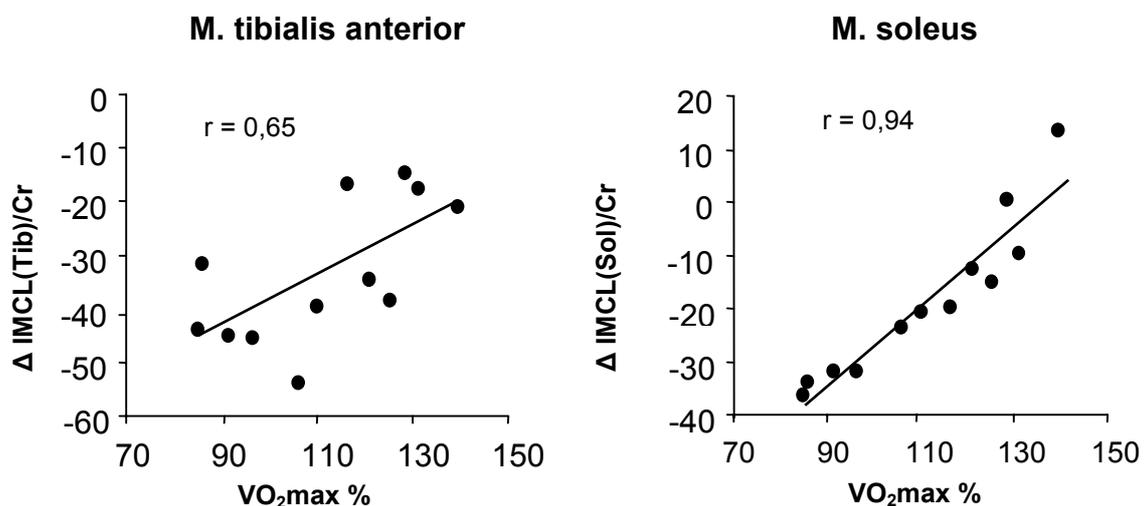


Abb. 9: Positive Korrelation zwischen prozentualer Veränderung des IMCL-Gehalts (Δ IMCL) und VO_{2max} in % nach körperlicher Belastung in beiden Muskelgruppen.

Eine negative Korrelation war dagegen zwischen dem Insulinsensitivitätsindex ISI (Matsuda) und den morgendlichen Ausgangswerten des IMCL-Gehalts in beiden Muskel zu sehen (Abb. 10). Diese negative Korrelation war bei allen Untersuchungsprotokollen (Normalkost, Fasten, fettreiche Kost, körperliche Belastung bei Normalkost) zu sehen. Die Abbildung zeigt das Beispiel bei Normalkost mit geringer körperlicher Belastung.

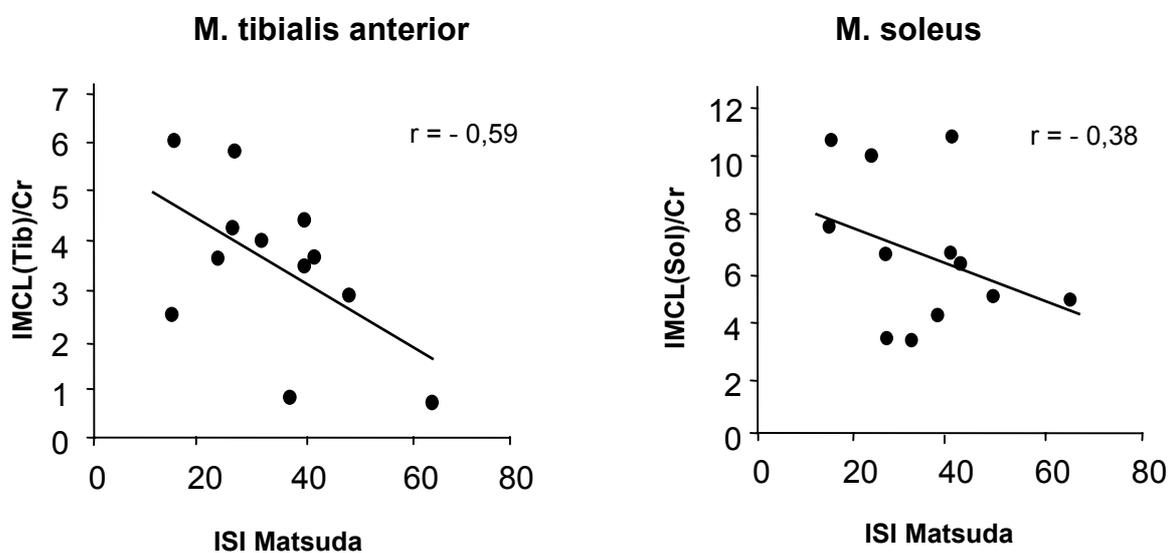


Abb. 10: Negative Korrelation zwischen morgendlichem IMCL-Gehalt bei Normalkost mit geringer körperlicher Belastung und dem Insulinsensitivitätsindex ISI (Matsuda) in beiden Muskelgruppen

3.4 Veränderungen des intramyozellulären Lipidgehaltes unter den unterschiedlichen Bedingungen

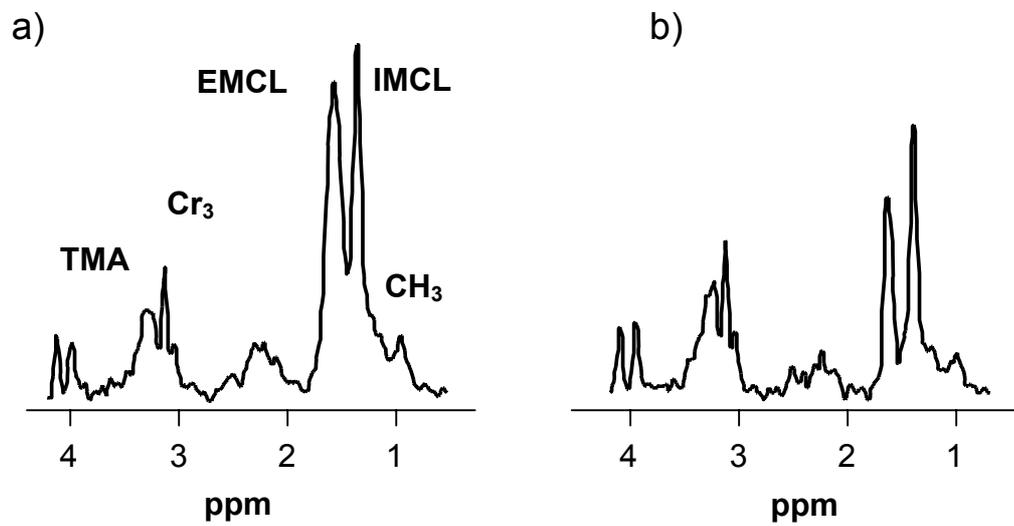
An allen Tagen ließ sich bei der morgendlichen Messung des IMCL-Gehaltes zwischen dem M. tibialis anterior und dem M. soleus bereits ein deutlicher Unterschied der IMCL-Konzentration erkennen (Tab. 6). Im Durchschnitt war im M. soleus eine um den Faktor 2,11 höhere Konzentration an intramyozellulären Lipiden zu messen als im M. tibialis anterior. Ebenso zeigte sich ein Konzentrationsunterschied zwischen beiden Muskeln bei der zwölf Stunden später durchgeführten abendlichen Messung.

3.4.1 Einfluss von kurzzeitigem Fasten auf den IMCL-Gehalt bei geringer körperlicher Belastung

Am Fastentag durften die Probanden außer Wasser und ungesüßtem Tee nichts zu sich nehmen, ebenso sollten keine sportlichen Betätigungen stattfinden, sondern überwiegend sitzende Tätigkeiten durchgeführt werden. Sowohl im M. tibialis anterior als auch im M. soleus kam es unter Fasten im Laufe des Tages zu einer deutlichen Abnahme des IMCL-Gehaltes.

Bei einem initialen IMCL/Creatin im M. tibialis anterior von $3,90 \pm 0,48$ (Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes, SEM), war bei der abendlichen Messung ein Wert von $2,66 \pm 0,28$ zu erfassen. Demnach betrug der prozentuale Abfall $28,8 \pm 4,5\%$ (Tab. 7). Die Abnahme des IMCL-Gehaltes im M. soleus war ähnlich dem Abfall des M. tibialis anterior (Abb. 12). Bei einem morgendlichen IMCL/Creatin von $8,20 \pm 0,91$ im M. soleus verringerte sich der IMCL-Gehalt um durchschnittlich $21,6 \pm 3,4\%$ (Tab. 7) auf einen Gehalt von $6,44 \pm 0,71$. (Vergleiche Abbildung 11,12 und Tabelle 7)

M. tibialis anterior



M. soleus

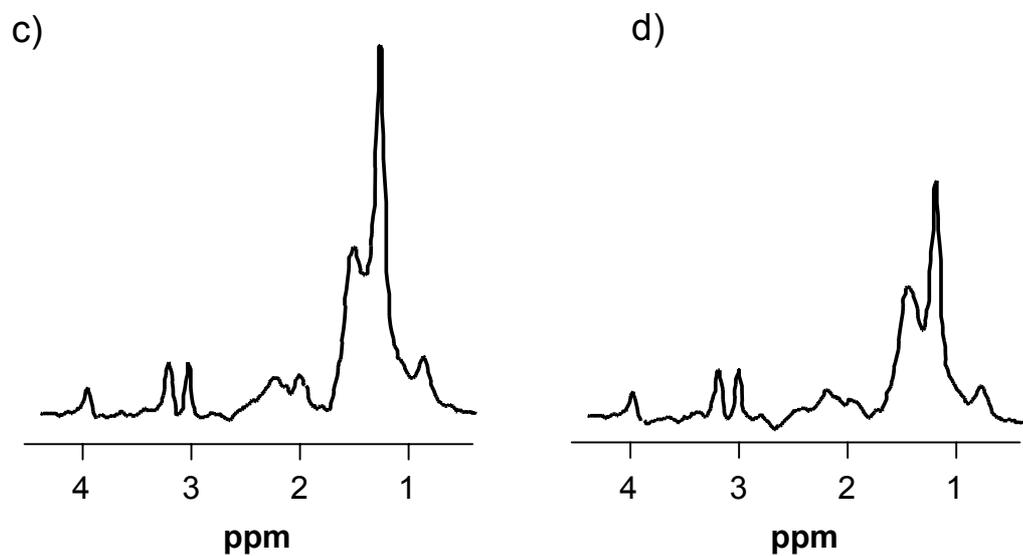


Abb. 11: a) zeigt das initiale Muskelspektrum des M. tibialis anterior von Proband Nr. 4
b) Spektrum nach Fasten mit Reduktion der IMCL
c) morgendliches Spektrum des M. soleus des 25-jährigen Probanden Nr. 4
d) ebenfalls verminderter IMCL-Gehalt im Spektrum des M. soleus nach Fasten

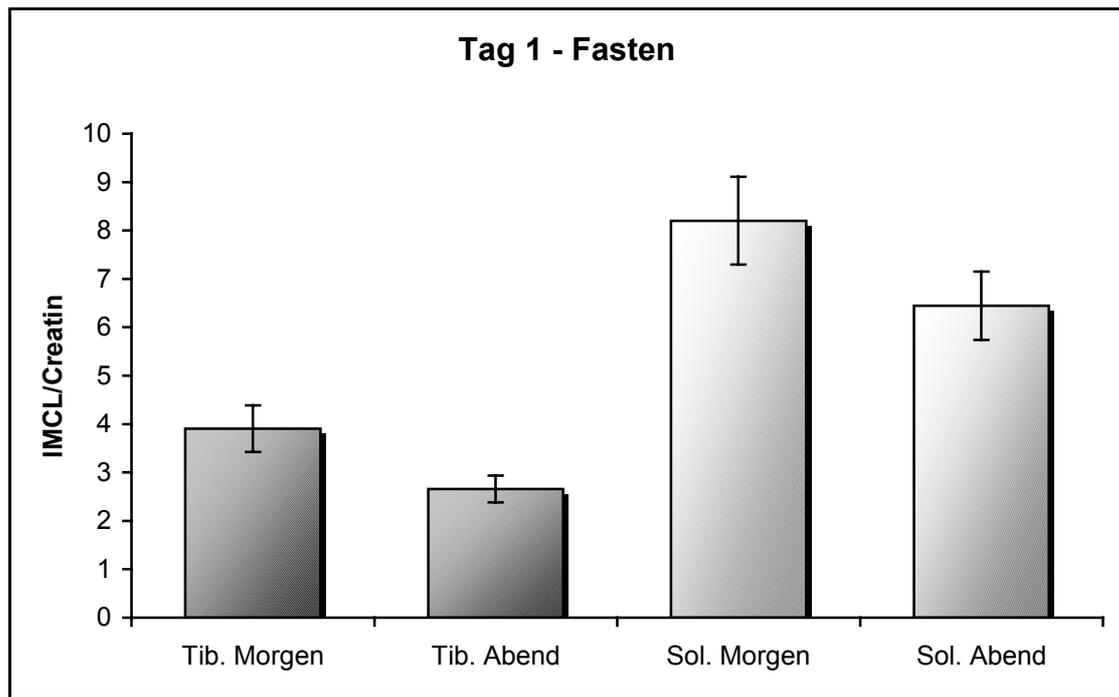


Abb. 12: Darstellung der Veränderung des IMCL-Gehaltes an einem Tag Fasten im *M. tibialis anterior* und *M. soleus*. Angegeben sind Mittelwerte und der SEM-Wert.

	IMCL/Creatin morgens	IMCL/Creatin abends	IMCL/Creatin-Veränderung in %
<i>M. tibialis anterior</i>	3,90 ± 0,48	2,66 ± 0,28	- 28,8 ± 4,5%
<i>M. soleus</i>	8,20 ± 0,91	6,44 ± 0,71	- 21,6 ± 3,4%

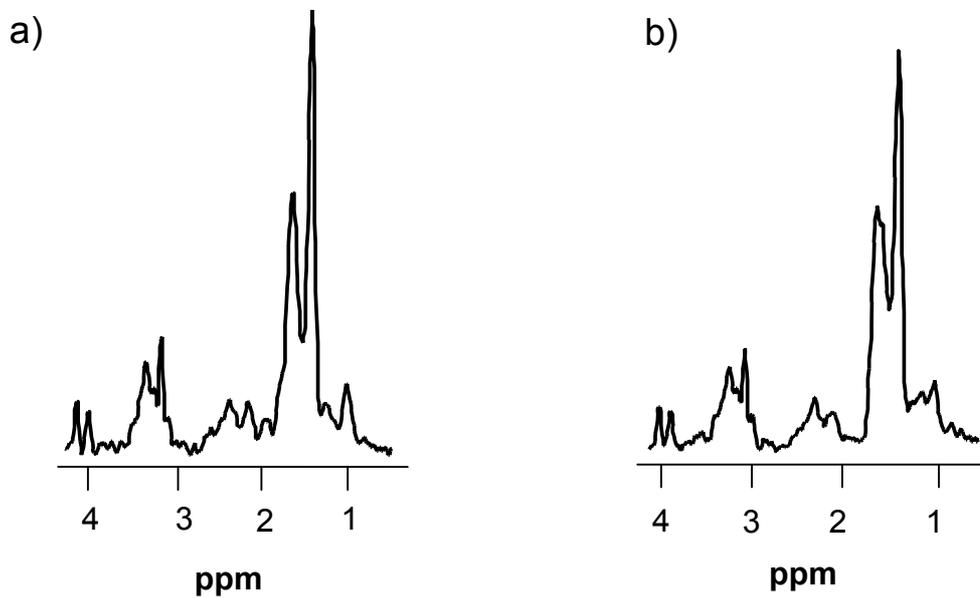
Tab. 7: Abnahme des intramyozellulären Lipidgehaltes nach einem Tag Fasten. Aufgeführt sind Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM)

3.4.2 Einfluss von Normalkost auf den IMCL-Gehalt bei geringer körperlicher Belastung

Am Versuchstag der Normalkost, welche sich aus ca. 60% Kohlenhydraten und ca. 20% gesättigten Fetten zusammensetzte und an dem die Probanden überwiegend sitzende Tätigkeiten ausübten, stellte sich folgendes Ergebnis heraus:

Wie in Abbildung 14 und Tabelle 8 zu sehen ist, hat sich der Gehalt an intramyozellulären Lipiden sowohl im M. tibialis anterior als auch im M. soleus verringert. Demnach betrug die Reduktion bei Normalkost im M. tibialis anterior $3,53 \pm 0,48$ auf ein IMCL/Creatin von $3,12 \pm 0,42$, was einer prozentualen Abnahme um $8,7 \pm 4,4\%$ entspricht (Abb. 19). Im M. soleus wurde eine ähnliche prozentuale Reduktion von $7,3 \pm 2,7\%$ ermittelt (Abb. 20).

M. tibialis anterior



M. soleus

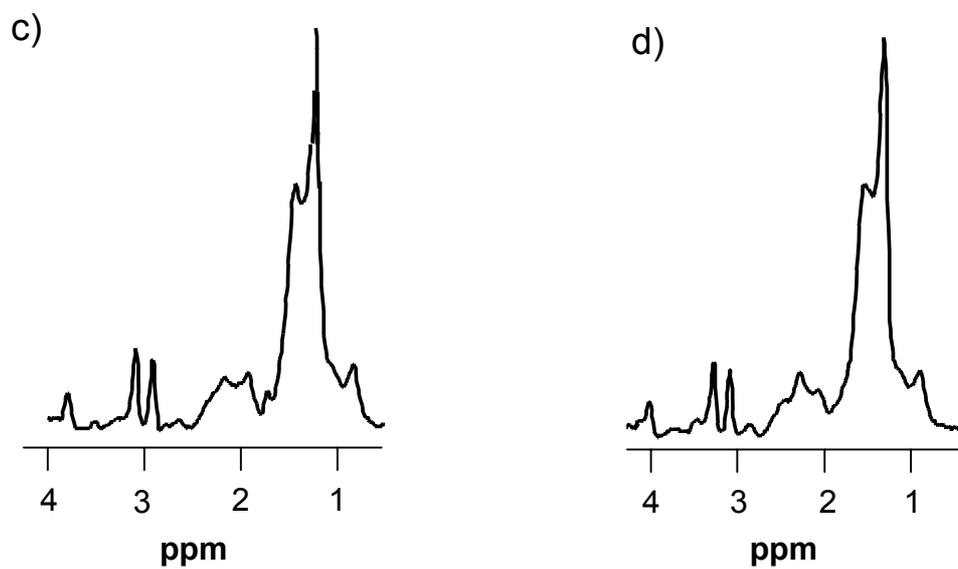


Abb. 13: a) zeigt das initiale Muskelspektrum des M. tibialis anterior von Proband Nr. 4
 b) Spektrum nach Normalkost mit Reduktion der IMCL
 c) morgendliches Spektrum des M. soleus des 25-jährigen Probanden Nr. 4
 d) verminderter IMCL-Gehalt im Spektrum des M. soleus nach Normalkost

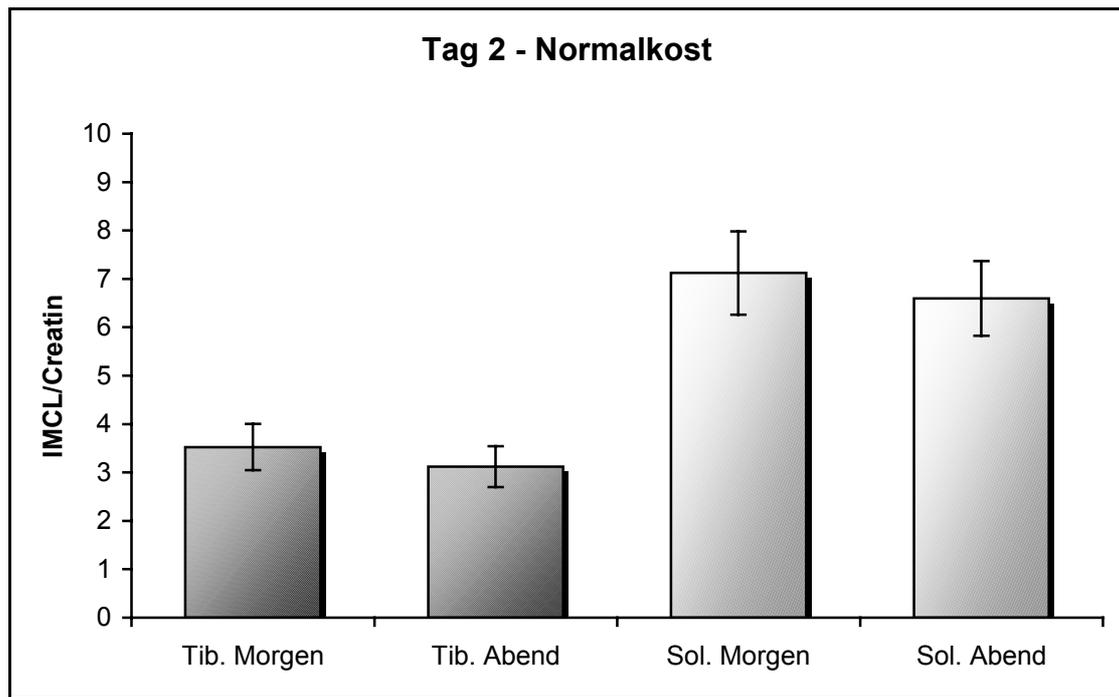


Abb. 14: Darstellung der Veränderung des IMCL-Gehaltes an einem Tag mit Normalkost im *M. tibialis anterior* und *M. soleus*. Angegeben sind Mittelwerte und der SEM-Wert.

	IMCL/Creatin morgens	IMCL/Creatin abends	IMCL/Creatin-Veränderung in %
<i>M. tibialis anterior</i>	3,53 ± 0,48	3,12 ± 0,42	- 8,7 ± 4,4%
<i>M. soleus</i>	7,12 ± 0,86	6,60 ± 0,77	- 7,3 ± 2,7%

Tab. 8: Abnahme des intramyozellulären Lipidgehaltes nach Normalkost. Aufgeführt sind Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM)

3.4.3 Einfluss von fettreicher Kost auf den IMCL-Gehalt bei geringer körperlicher Belastung

Am dritten Versuchstag wurde den Probanden fettreiche Kost mit ca. 60% gesättigten Fetten und ca. 30% Kohlenhydraten zur Verfügung gestellt. Ebenso waren die Probanden im Tagesverlauf mit überwiegend sitzender Tätigkeit beschäftigt.

Wie aus Abbildung 15, 16 und Tabelle 9 zu entnehmen, hat sich der intramyozelluläre Lipidgehalt sowohl im M. tibialis anterior als auch im M. soleus nur unwesentlich verändert. Zwar waren bei allen Probanden gewisse Veränderungen zu messen, so im M. tibialis anterior im Mittel ein Anstieg des IMCL/Creatin von $3,43 \pm 0,59$ auf $3,78 \pm 0,55$. Hingegen kam es im M. soleus zu keiner wesentlichen Veränderung des IMCL/Creatin ($7,51 \pm 1,00$ auf $7,50 \pm 1,00$). Die gemessenen prozentualen Veränderungen lagen somit im M. tibialis anterior bei einem diskreten Anstieg von $0,6 \pm 2,3\%$ und im M. soleus bei einem Abfall von $0,2 \pm 1,3\%$ (Abb. 19 und 20).

Diese Werte sind allerdings im Rahmen der Messungenauigkeit als äußerst gering zu bezeichnen und somit als nicht signifikant zu bewerten.

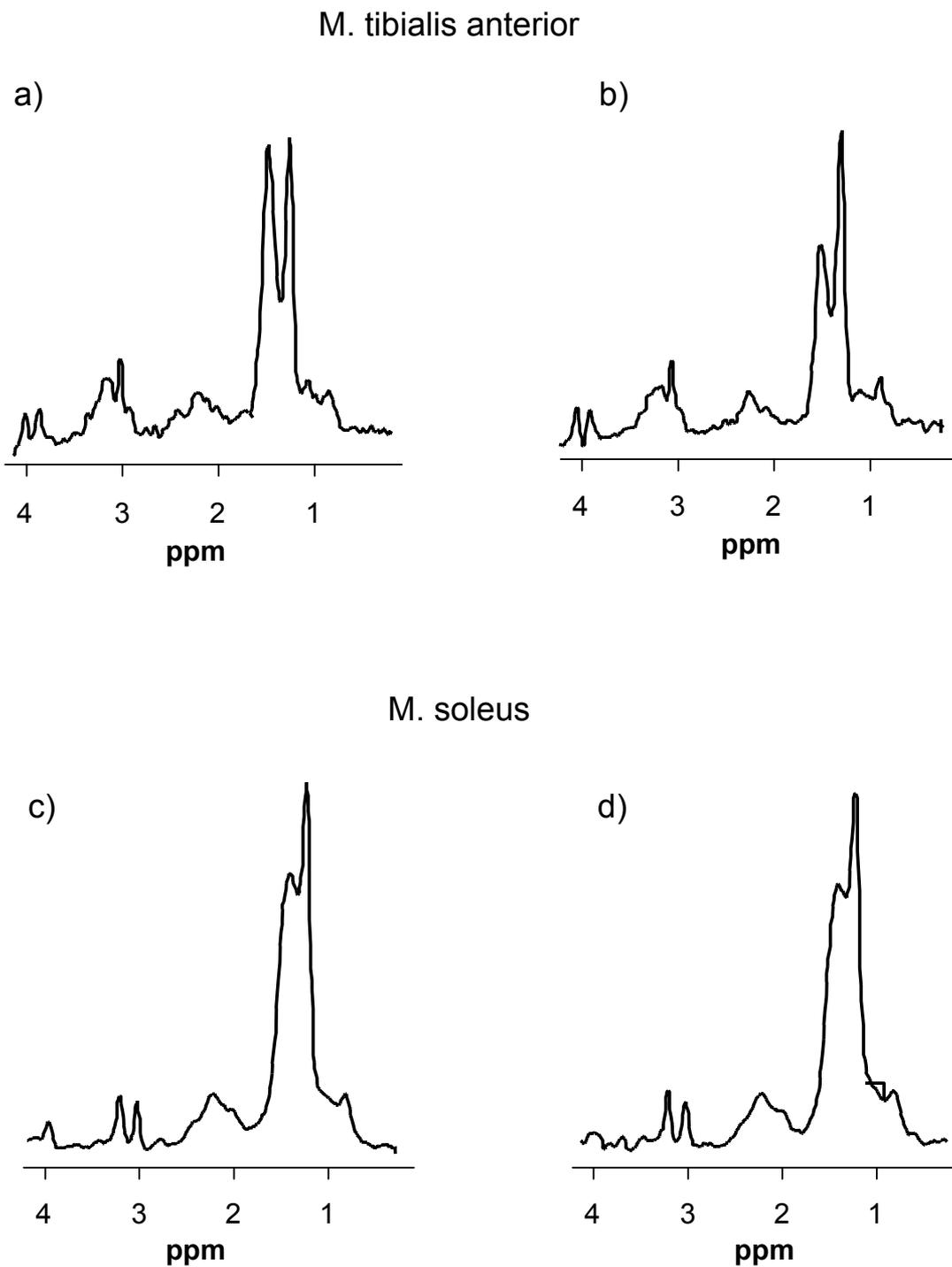


Abb. 15: a) zeigt das initiale Muskelspektrum des *M. tibialis anterior* von Proband Nr. 11
b) Spektrum nach fettreicher Ernährung ohne Anstieg der IMCL
c) morgendliches Spektrum des *M. soleus* des 37-jährigen Probanden Nr. 11
d) unverändertes Spektrum des *M. soleus* nach fettreicher Ernährung

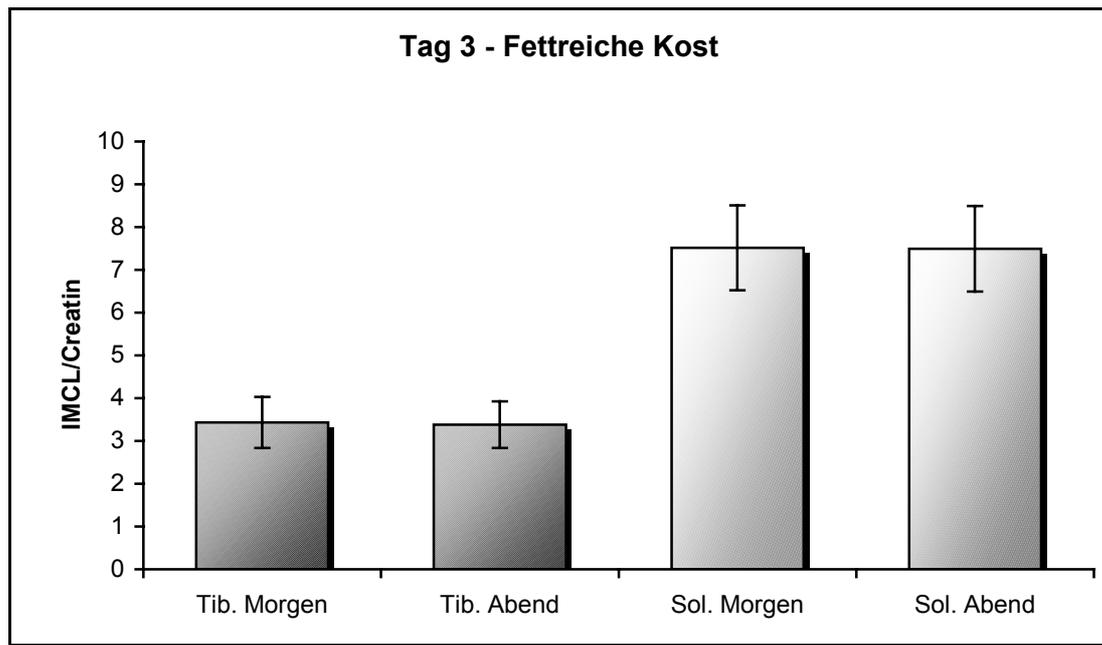


Abb. 16: Darstellung der Veränderung des IMCL-Gehaltes an einem Tag mit Fettreicher Kost im *M. tibialis anterior* und *M. soleus*. Angegeben sind Mittelwerte und der SEM-Wert.

	IMCL/Creatin morgens	IMCL/Creatin abends	IMCL/Creatin-Veränderung in %
<i>M. tibialis anterior</i>	3,43 ± 0,59	3,78 ± 0,55	+ 0,6 ± 2,3%
<i>M. soleus</i>	7,51 ± 1,00	7,50 ± 1,00	- 0,2 ± 1,3%

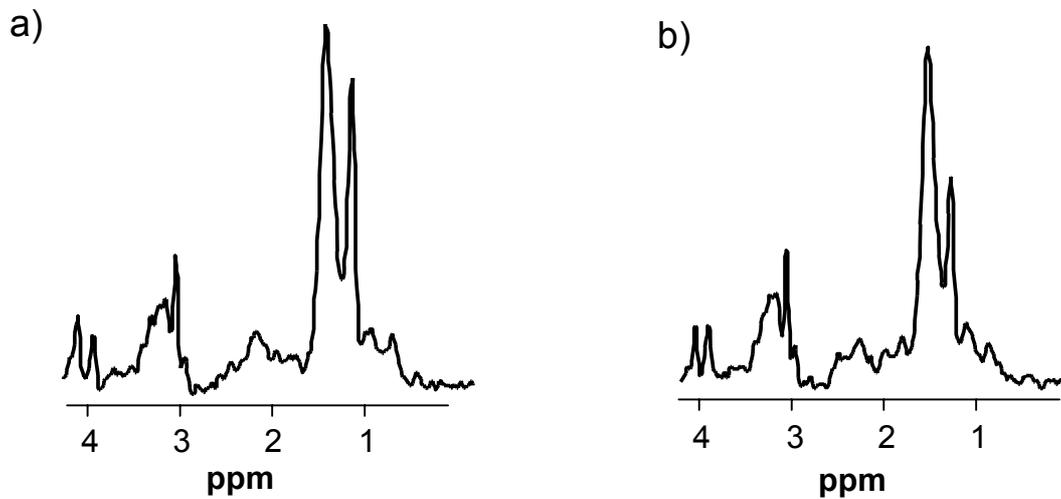
Tab. 9: Abnahme des intramyozellulären Lipidgehaltes nach fettreicher Kost. Aufgeführt sind Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM)

3.4.4 Einfluss von mäßiger aerober Bewegung auf den IMCL-Gehalt bei Normalkost

Die aerobe körperliche Belastung war mit etwa 55 - 65% der maximalen aeroben Kapazität ($VO_2\text{max}$) für die Dauer von 120 Minuten durchgeführt worden. Die abendlichen Messungen fanden unmittelbar nach der aeroben Belastung in Form von zügigem Gehen (Walking) statt. Beachtet wurde, dass bei dieser körperlichen Belastung die Herzfrequenz $>140/\text{min}$ nicht überschritten wurde.

Mäßige Bewegung führte bei den Probanden sowohl im M. tibialis anterior als auch im M. soleus zu einer Abnahme des intramyozellulären Lipidgehaltes. So betrug die signifikante Reduktion bei allen Probanden im M. tibialis anterior von einem anfänglichen IMCL/Creatin-Wert von $3,11 \pm 0,57$ auf $2,21 \pm 0,49$ (Abb. 18, Tab. 10). Im M. tibialis anterior lag die prozentuale Verringerung im Bezug zur initialen Messung somit bei $33,9 \pm 4,9\%$ (Abb. 19). Bei einem initialen IMCL/Creatin im M. soleus von $6,57 \pm 0,94$ und einem abendlichen Wert von $5,60 \pm 1,09$ hingegen war die prozentuale Abnahme mit $17,3 \pm 4,5\%$ weniger stark zu verzeichnen (Abb. 20).

M. tibialis anterior



M. soleus

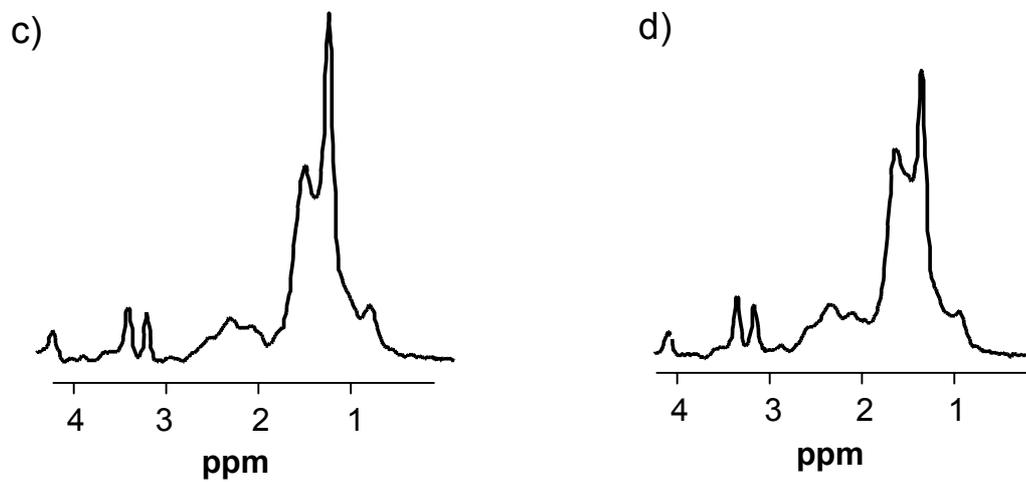


Abb. 17: a) zeigt das initiale Muskelspektrum des *M. tibialis anterior* von Proband Nr. 2
 b) Spektrum nach mäßiger aerober Bewegung (Walking) mit Reduktion der IMCL
 c) morgendliches Spektrum des *M. soleus* des 25-jährigen Probanden Nr. 2
 d) verminderter IMCL-Ge4halt im Spektrum des *M. soleus* nach aerober Bewegung

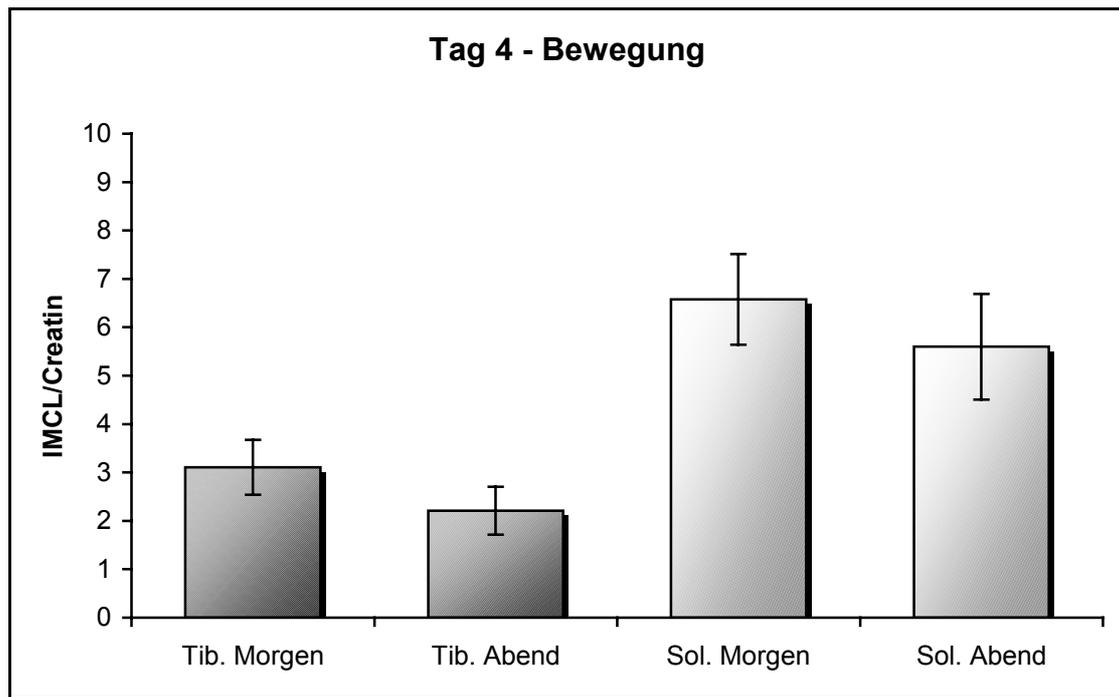


Abb. 18: Darstellung der Veränderung des IMCL-Gehaltes an einem Tag mit Bewegung im *M. tibialis anterior* und *M. soleus*. Angegeben sind Mittelwerte und der SEM-Wert.

	IMCL/Creatin morgens	IMCL/Creatin abends	IMCL/Creatin-Veränderung in %
<i>M. tibialis anterior</i>	3,11 ± 0,57	2,21 ± 0,49	- 33,9 ± 4,9%
<i>M. soleus</i>	6,57 ± 0,94	5,60 ± 1,09	- 17,3 ± 4,5%

Tab. 10: Abnahme des intramyozellulären Lipidgehaltes nach mäßiger Bewegung. Aufgeführt sind Mittelwert ± Standardfehler des Mittelwertes (SEM)

3.5 Vergleich der einzelnen Tagesbedingungen

Um einen Vergleich zwischen den unterschiedlichen Tagesbedingungen herzustellen, wurden gepaarte t-Tests durchgeführt. Hierzu wurden die diätetischen Maßnahmen (Fasten, fettreiche Kost) dem Untersuchungsprotokoll Normalkost gegenübergestellt. Bei all diesen Tagen erfolgte nur eine geringe körperliche Belastung (überwiegend sitzende Tätigkeit).

Dieser t-Test ließ beim Vergleich zwischen Fastentag und Tag mit Normalkost im M. tibialis anterior keinen signifikanten Unterschied ($p_{\text{Tib}} = 0,017$) erkennen. Im M. soleus hingegen war beim Vergleich Fasten – Normalkost eine Signifikanz mit $p_{\text{Sol}} = 0,003$ zu erkennen.

In einem weiteren Vergleich des Normalkosttages mit dem Tag der fettreichen Ernährung war bei einem $p_{\text{Tib}} = 0,088$ und einem $p_{\text{Sol}} = 0,134$ in beiden Muskeln kein signifikanter Unterschied zu erkennen.

Signifikante Veränderungen konnten beim Vergleich von fettreicher Kost mit dem Fastentag festgestellt werden. Dabei errechnete sich für den M. tibialis und den M. soleus eine Signifikanz von $p < 0,00833$ nach Bonferoni-Korrektur.

Als weiteren Punkt wurde die Fragestellung bezüglich körperlicher Aktivität bei gleicher Ernährung (Normalkost) behandelt. Bei den durchgeführten Mehrfachvergleichen mittels gepaartem t-Test konnten zwischen mäßiger aerober Bewegung bei Normalkost und Normalkosttag mit geringer körperlicher Belastung in beiden Muskelgruppen kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die entsprechenden Signifikanzen lagen hierzu bei $p_{\text{Tib}} = 0,106$ und $p_{\text{Sol}} = 0,546$.

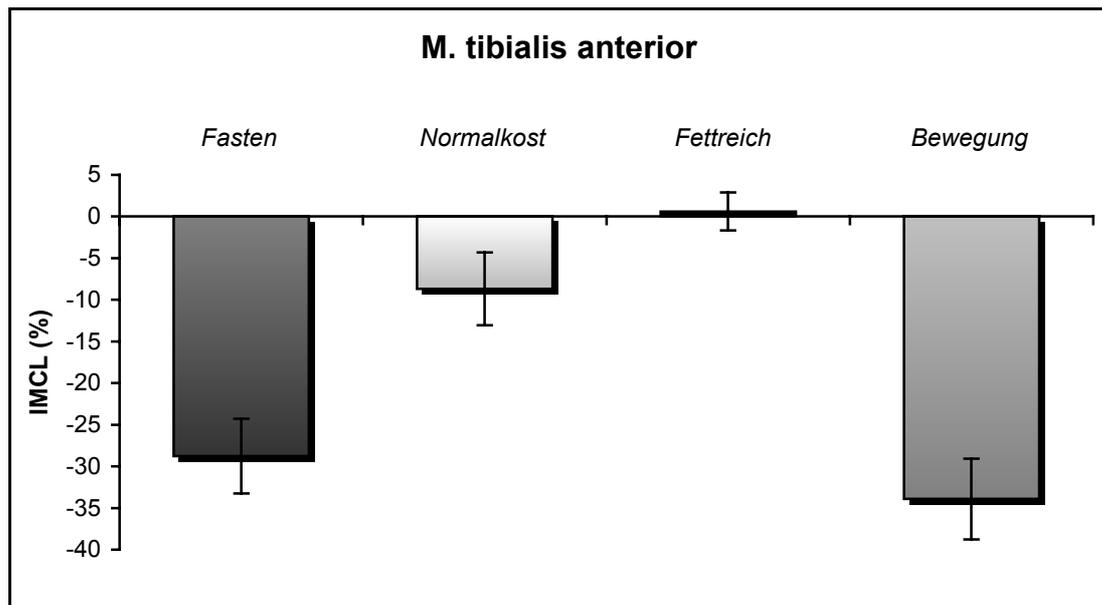


Abb. 19: Darstellung der prozentualen Veränderung des IMCL-Gehaltes an einem Tag im *M. tibialis anterior* nach den unterschiedlichen Tagesbedingungen. Angegeben sind Mittelwerte und der SEM-Wert.

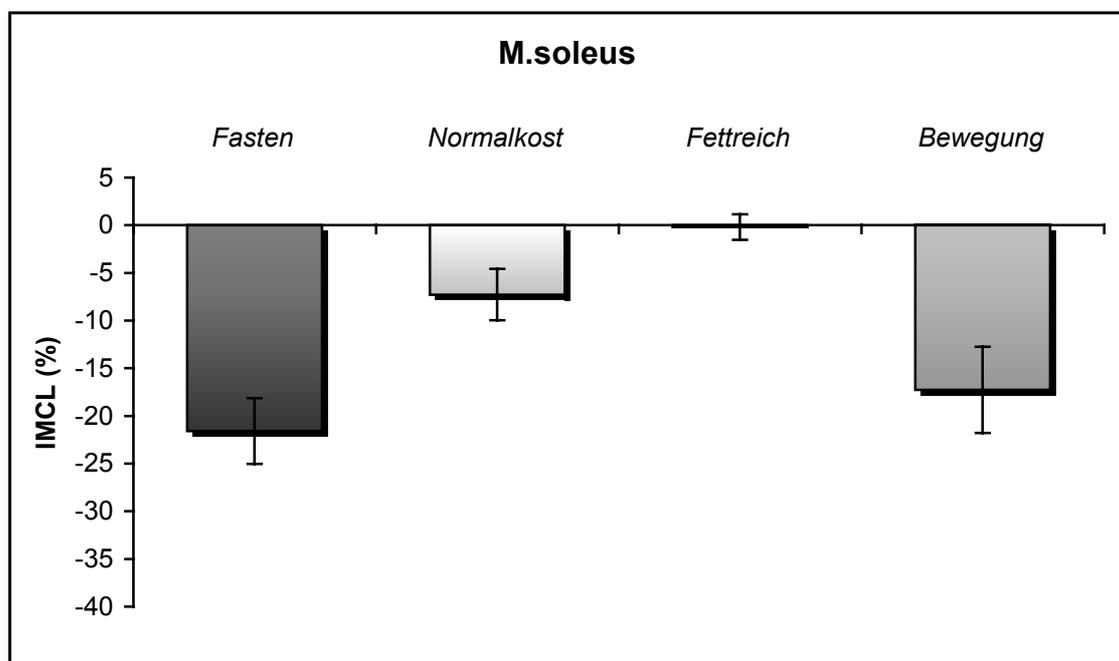


Abb. 20: Darstellung der prozentualen Veränderung des IMCL-Gehaltes an einem Tag im *M. soleus* nach den unterschiedlichen Tagesbedingungen. Angegeben sind Mittelwerte und der SEM-Wert.

4. Diskussion

Die Insulinresistenz ist eine in der westlichen Gesellschaft weit verbreitete Erkrankung, die in engem Zusammenhang mit der Pathogenese verschiedener Krankheiten, wie beispielsweise Stoffwechselstörungen in Form des Diabetes mellitus steht. Bis heute ist der genaue Mechanismus allerdings noch nicht genau verstanden. Man weiß, dass es einen genetischen Zusammenhang in der Pathogenese der Insulinresistenz gibt. Aber auch Faktoren wie Adipositas, fettreiche Ernährung und körperliche Inaktivität spielen eine wichtige Rolle bei diesem Krankheitsbild. Bereits vor einigen Jahren hat man herausgefunden, dass hierbei vor allem der muskuläre Fettstoffwechsel eine nennenswerte Funktion einnimmt.

So besteht zwischen Insulinsensitivität und dem Gehalt an intramyozellulären Lipiden im M. tibialis anterior eine signifikante negative Korrelation. Bei der Insulinresistenz liegt im Skelettmuskel ein erhöhter Gehalt an Triglyzeriden vor (58). Ebenso ist bei insulinresistenten Personen der Fettgehalt in Muskelbiopsien erhöht. Der genaue Mechanismus, wie es zu dieser Ansammlung von Triglyzeriden in der Skelettmuskulatur kommt, ist allerdings noch weitgehend unbekannt. Man vermutet, dass es entweder zu einer überproportional erhöhten Aufnahme von Fettsäuren in die Skelettmuskulatur kommt, oder der Anstieg der Triglyzeride in Zusammenhang mit einer verminderten Fettoxidation steht (39).

Ziel dieser Arbeit war es, die Beeinflussung des muskulären Lipidgehaltes durch Ernährung und körperliche Bewegung innerhalb eines Tages zu untersuchen.

4.1 *Untersuchung der muskulären Lipide mittels volumenselektiver ¹H-MR-Spektroskopie*

In verschiedenen Untersuchungen wurde bei Patienten mit Insulinresistenz ein erhöhter muskulärer Fettgehalt nachgewiesen. Bis vor wenigen Jahren wurden zur histochemischen und biochemischen Bestimmung dieses Fettgehaltes meist invasive Muskelbiopsien angewendet. Diese invasive Bestimmung war zum einen sehr schmerzhaft und zum anderen war die Variabilität des Fettgehaltes sehr hoch. Es ergaben sich auch Probleme bei der Differenzierung zwischen intra- und extramyozellulären Lipiden (60,62,90). Ebenso kam es zu Schwierigkeiten bei der Darstellung der Veränderungen des Lipidgehaltes bei Verlaufsuntersuchungen.

Kelley et al. (40) untersuchten den muskulären Fettanteil mittels Computertomographie und versuchten, einen Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und Adipositas herzustellen. Allerdings ergaben sich auch hier Probleme bei der Differenzierung zwischen intra- und extrazellulärem Lipidanteil. Zwar stellt die Messmethode mittels Computertomographie im Vergleich zu Muskelbiopsien ein nicht-invasives Verfahren dar, jedoch geht die Untersuchung der muskulären Lipide mittels Computertomographie mit einer Strahlenbelastung einher. Aus diesem Grund ist die Untersuchung mittels Computertomographie, welche den dynamischen Verlauf darstellen, für Patienten nicht geeignet.

Weiter kamen bei der Untersuchung muskulärer Lipide verschiedene Magnetresonanzmethoden zur Anwendung. So stellt die Protonen-Magnetresonanzspektroskopie (¹H-MRS) der Skelettmuskulatur ein nicht-invasives Verfahren zur Detektion und Differenzierung molekularer Strukturen und Metaboliten dar (7,10,46,72). Die hochselektive MR-Fettbildgebung zur Messung der muskulären Lipide eignet sich ebenso wie die ¹H-Magnetresonanzspektroskopie als nicht-invasive Methode zur Bestimmung des Muskellipidgehaltes (84). Mit Hilfe unterschiedlicher Magnetresonanzmethoden

gelang es erstmals, nicht nur die muskulären Triglyzeride zu detektieren, sondern auch eine Differenzierung intra- und extramyozelluläre Lipide durchzuführen.

Die Differenzierung der Muskelfette mittels MR-Methoden wurde erstmals im Jahre 1993 von Schick et al. erwähnt (72). Diese Methode bedient sich der unterschiedlichen Lipidresonanzen mit einer Frequenzverschiebung von 0,2 ppm. Neben Frequenzverschiebungen der Signale durch chemical shift kommt es hierbei zu suszeptibilitätsbedingten Larmorfrequenz-Verschiebung der Lipidkomponenten. Ebenso spielt die orientierungsabhängige Resonanz in der Spektroskopie eine Rolle. Dabei wurde festgestellt, dass das Signal mit der höheren Resonanzfrequenz Lipide der Adipozyten, und das andere mit niedrigerer Resonanzfrequenz Lipide mit ähnlicher Zusammensetzung darstellt, die sich allerdings intramyozellulär befinden (46,72).

Im weiteren wurden diese Ergebnisse von Boesch et al. näher untersucht und als extramyozelluläre (EMCL) und intramyozelluläre (IMCL) Lipide bestimmt (7). Es zeigte sich zudem, dass im M. tibialis anterior die Faserorientierung entlang des äußeren Magnetfeldes B_0 einen Einfluss auf den Suszeptibilitätseffekt ausübt. Wie auch unsere Messergebnisse zeigen, lässt sich dies daran erkennen, dass in Muskelspektren des M. tibialis anterior mit seinen parallel dem B_0 -Magnetfeld angeordneten Muskelfasern eine deutliche Separierung zwischen intra- und extrazellulärem Signal möglich ist. Im M. soleus hingegen, der sich durch seine gefiederte Struktur kennzeichnet, ist diese Separierung äußerst schwierig.

Die Methode der Protonenmagnetresonanzspektroskopie zur Quantifizierung der muskulären Lipide wurde nachfolgend durch weitere Studien bei Patienten mit kongenitaler Lipodystrophie, welche keine extramyozellulären Lipide aufweisen, gefestigt (86).

Die intraindividuelle Reproduzierbarkeit der Magnetresonanzspektren wurde durch Brechtel et al. (12) überprüft, indem drei zeitlich auseinander liegende Messungen an verschiedenen Probanden durchgeführt wurden. Um den Einfluss der Voxelpositionierung zu prüfen, wurden bei einem Probanden Messungen mit Voxelverschiebung entlang aller drei Raumachsen durchgeführt. Die Gruppe kam zu dem Ergebnis, dass sich für beide Muskeln ein relativ konstantes IMCL/Creatin-Verhältnis zeigt. Beim M. tibialis anterior lag der Schwankungsbereich bei 2 – 10%, beim M. soleus bei 2 – 15%. Bei der Voxelposition zeigt lediglich das EMCL/Creatin-Verhältnis des M. tibialis anterior eine deutliche Abhängigkeit, die Werte schwanken hier bis zu 40%. Die übrigen Messgrößen schwanken im Bereich zwischen 6 – 7%. Aus diesem Grund ist im Rahmen unserer Messungen deshalb zwar sowohl intramyozellulärer als auch extramyozellulärer Lipidgehalt im Muskelgewebe bestimmt worden, allerdings wurde bei der Auswertung auf die Angabe der extramyozellulären Lipide verzichtet.

In dieser Arbeit konnten wir ebenso bestätigen, dass regionale Unterschiede bezüglich der IMCL unabhängig von der Messzeit bestehen (37). Mittels ¹H-MR-Spektroskopie der Skelettmuskulatur konnte festgestellt werden, dass der Gehalt an intramyozellulären Lipiden im M. soleus (SOL) im Gegensatz zum M. tibialis anterior (TIB), wie andere Studien bereits belegten, um das Zweifache höher liegt (38,61).

Unsere Ergebnisse sind stimmig mit der Erkenntnis über die unterschiedlichen Muskelfasertypen. Demnach besteht der M. soleus vorwiegend (> 70%) aus schnellen, roten Typ I Muskelfasern. Der M. tibialis anterior ist ein gemischter Muskel, der aus Typ I und vorwiegend aus langsamen Typ II Fasern aufgebaut ist (24). Intramyozelluläre Lipide (IMCL) in Form von Triglyzeriden stehen bei Bedarf mittels Fettsäureoxidation als Energiequelle zu Verfügung. Man findet diese vorwiegend in den roten mitochondrienreichen Typ I Muskelfasern (50). Der M. tibialis anterior hingegen gewinnt seine Energie zum größten Teil über aerobe Glykolyse, weniger durch Fettsäureoxidation.

In diesem Sinne sei eine Studie von Hwang et al. (37) erwähnt, in der eine Beziehung zwischen gleichzeitig hohem Body-Mass-Index und hohem EMCL-Gehalt im Vergleich zum IMCL-Gehalt darstellten, welcher wiederum mit der oxidativen Funktion des Muskels und dessen Muskelfasertyps korreliert. Hieraus ergab sich für die vorliegende Arbeit eine Beschränkung des Probandenkollektives auf normalgewichtige Personen.

4.2 Beeinflussung der intramyozellulären Lipide durch unterschiedliche Ernährung an einem Tag

Wie bereits erwähnt, spielt in der Pathogenese der Insulinresistenz nicht nur die genetische Komponente eine wichtige Rolle, sondern auch die Beeinflussung muskulärer Lipide durch Ernährung und körperliche Bewegung. Untersucht wurden in diesem Zusammenhang die ernährungsbedingten Veränderungen des intramyozellulären Lipidgehalts innerhalb eines Tages in zwei unterschiedlich strukturierten Muskeln: M. tibialis anterior und M. soleus. Hierzu wurden in der vorliegenden Arbeit unter anderem verschiedene Aspekte der Ernährung wie Normalkost, fettreiche Ernährung und Fasten ermittelt.

In der heutigen Gesellschaft kommt es bei vielen Menschen zu einer Kombination aus fettreicher Ernährung (Fastfood) und Mangel an körperlicher Bewegung, welche unweigerlich zu Übergewicht führt. So ergibt sich eine negative Korrelation zwischen Body-Mass-Index und Insulinsensitivität, was bedeutet, dass mit steigendem BMI die Insulinsensitivität fällt bzw. die Insulinresistenz der betroffenen Person verstärkt wird. Dies wurde bereits in anderen Studie nachgewiesen (85) und ebenso die Erkenntnis darüber, dass die Insulinresistenz als Vorstufe des Diabetes mellitus Typ 2 zu werten ist (3,33).

4.2.1 Fettreiche Ernährung

In einigen Studien wurde bereits gezeigt, dass durch fettreiche Ernährung Veränderung des Insulinstoffwechsels hervorgerufen werden kann. Hierzu untersuchten Stettler et al., inwiefern sich fettreiche Ernährung und körperliche Inaktivität in Form von sechzigstündiger Bettruhe auf die Insulinsensitivität auswirkt (82). Die Gruppe kam zu dem Ergebnis, dass es zu einer signifikanten Reduktion der Insulinsensitivität kommt. Andererseits führte die Kombination von Bettruhe und kohlenhydratreicher Kost, beziehungsweise fettreicher Kost und körperlicher Bewegung zu keiner Beeinflussung der Insulinsensitivität.

Eine fettreiche Diät über drei Tage führte vor allem im M. tibialis anterior zu einem signifikanten Anstieg der intramyozellulären Lipide und ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion der Insulinsensitivität, während fettarme Ernährung keinen Unterschied erkennen ließ (1). Die intravenöse Zufuhr einer Lipidinfusion führte nach sechs Stunden zu einer Erhöhung der intramyozellulären Lipidkonzentration bis auf 50% des Ausgangswertes und zur gleichzeitigen Abnahme der Insulinsensitivität (1). Brechtel et al. (13) führte hierzu genauere Untersuchungen durch, die zu dem Ergebnis führten, dass es in den ersten drei Stunden während einer Lipidinfusion zu fast keiner Veränderung des IMCL-Gehaltes im M. tibialis anterior und in M. soleus kommt, während in der vierten Stunde ein maximaler Anstieg zu erkennen war.

Schrauwen-Hinderling et al. stellten einen Anstieg der intramyozellulären Lipide im M. vastus lateralis um 54% nach einer einwöchigen fettreichen Diät (60% Fette, 25% Kohlenhydrate und 15% Proteine) fest, die mit einer Adaption des Fettstoffwechsels einherging, wobei es zu einer Speicherung der zugeführten Lipide in der Muskelzelle kam und diese nicht der Lipidoxidation zugeführt wurden (76).

Unsere Untersuchungen kamen zu dem Ergebnis, dass sich bei einer fettreichen Ernährung innerhalb des Untersuchungszeitraumes im Vergleich mit

der Kontrollgruppe mit Normalkost (60% Kohlenhydrate und 20% Fetten) keine deutliche Veränderungen der intramyozellulären Lipide weder im M. tibialis noch im M. soleus ergeben haben. Demnach betrug die prozentuale Abnahme von intramyozellulären Lipiden bei Normalkost im M. tibialis anterior $8,7\% \pm 4,4\%$. Im M. soleus wurde eine ähnliche prozentuale Reduktion von $7,3\% \pm 2,7\%$ gemessen. Bei Ernährung mit fettreicher Kost lag der diskrete prozentuale Anstieg im M. tibialis anterior bei $0,6\% \pm 2,3\%$. Im M. soleus hingegen war, verglichen mit dem Ausgangswert, ein Abfall der intramyozellulären Lipide von $0,2\% \pm 1,3\%$ vorhanden. Im Rahmen der statistischen Ausarbeitung und der Messgenauigkeit lassen sich diese Werte als nicht signifikant bewerten.

Vergleicht man unsere Ergebnisse mit denen von Stettler et al. (82), lässt sich nicht genau erkennen, ob der fehlende Anstieg der intramyozellulären Lipide darauf zurückzuführen ist, dass der Anstieg eventuell erst nach mehrtägiger fettreicher Ernährung erkennbar ist, oder ob die in unserer Gruppe verabreichte Menge an Fetten zu gering war, um einen erkennbaren Anstieg der intramyozellulären Lipide innerhalb eines Tages zu veranlassen. Hierzu sind weitere Messungen nötig, die den genauen Zeitpunkt des muskulären Lipidanstiegs untersuchen.

4.2.2 Fasten

Weiter wurde in unserer Gruppe untersucht, inwieweit sich Fasten über einen Zeitraum von einem Tag auf den IMCL-Gehalt auswirkt. Wie bereits beschrieben, durften die Probanden an diesem Untersuchungstag außer ungesüßtem Tee und Wasser nichts zu sich nehmen.

Kommt es im menschlichen Körper während einer bestimmten Zeit zu keiner Energiezufuhr (Fasten), stellt sich der Organismus auf eine katabole Stoffwechsellage ein. Um seine Stoffwechselfunktion weiterhin aufrecht erhalten zu können, ist eine adäquate Glukosekonzentration im Blut nötig. Dies wird über das Zusammenspiel verschiedener Organsysteme wie Fettgewebe, Muskel und Leber reguliert. Glukose ist als Energielieferant vor allem für das zentrale Nervensystem erforderlich und wird mit Hilfe der gegenregulatorischen Hormone Glukagon, Adrenalin und Kortisol zur Verfügung gestellt. Nachdem die Glykogenspeicher des Körpers aufgebraucht sind, werden Triglyzeride im Fett- und Muskelgewebe abgebaut (Lipolyse), um einerseits in Form von Glyzerin für die Glukoneogenese zur Verfügung zu stehen. Andererseits kommt es in der Leber zu gesteigerter Fettsäureoxidation mit erhöhter Bildung und Export von Ketonkörpern (β -Hydroxybutyrat und Acetoacetat). Diese werden von Herz und Skelettmuskulatur aufgenommen und in Citrat-Zyklus und Atmungskette verstoffwechselt. Während der Lipolyse lassen sich im Blut erhöhte Blutwerte von freien Fettsäuren und Triglyzeriden messen.

Laktat, das z.B. von Zellen des arbeitenden Muskels während des Glucoseabbaus gebildet wird, kann in der Leber resynthetisiert werden und somit erneut dem Glukosestoffwechsel zugeführt werden (Cori-Zyklus). Auch die in Leber und Niere stattfindende, glukoneogenetische Verarbeitung von Aminosäuren, die vor allem aus eingeschmolzenem Muskelprotein stammen, ist in diesem Zusammenhang bedeutsam. Die Rolle der Skelettmuskulatur für den

Gesamtstoffwechsel des Organismus ist in allen diesen Fällen besonders wichtig.

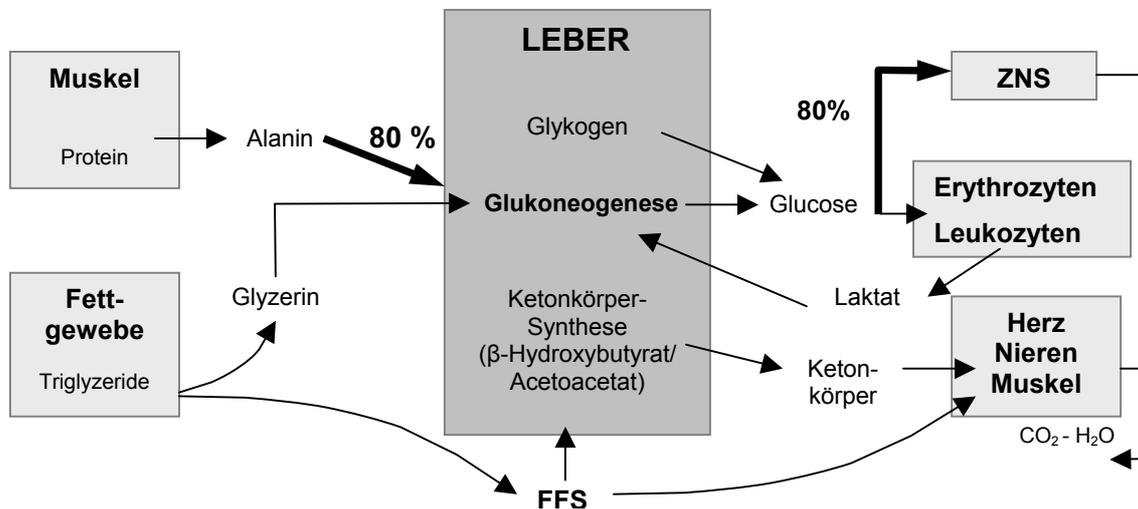


Abb. 21: Stoffwechselregulation während kurzzeitigem Fasten (12-24 Stunden)

In dieser Arbeit wurde untersucht, inwiefern sich eine zwölfstündige Nahrungskarenz auf den Gehalt an intramyozellulären Lipiden im M. soleus (Typ I Muskelfasern) und im M. tibialis anterior (gemischter, vorwiegend Typ II Fasern) auswirkt.

Mittels der ^1H -Magnetresonanzspektroskopie konnte sowohl im M. tibialis anterior als auch im M. soleus ein deutlicher Abfall der intramyozellulären Lipide erfasst werden. Demnach wurde im M. tibialis anterior nach Ablauf des Versuches (ca. zwölf Stunden) ein Abfall des IMCL/Creatin um $28,8\% \pm 4,5\%$ gemessen. Im M. soleus war eine Reduktion des IMCL-Gehalt um durchschnittlich $21,6\% \pm 3,4\%$ zu verzeichnen. Betrachtet man den überwiegend aus Typ II Fasern bestehenden M. tibialis anterior, welcher seine Energie hauptsächlich über Glykolyse bezieht, kommt es im Rahmen einer mehrtägigen Nahrungskarenz zum Substratmangel in Form der Glukose. Durch die fehlende Kohlenhydrataufnahme ist die Muskelzelle gezwungen, ihre

Energiegewinnung über die Aufnahme von freien Fettsäuren sicher zu stellen. Die erhöhten Fettsäurewerte im Blut während des Fastens durch Lipolyse im Fettgewebe führen vermutlich zu einem überproportionalen Anstieg der Fettsäureaufnahme in die Myozyten, basierend auf einen Beobachtungszeitraum von mehreren Tagen (42,91).

Wietek et al. (91) führten bei vier Probanden im Alter zwischen 32 und 46 Jahren eine Fastenperiode über 120 Stunden durch, in der es zu einem extremen Anstieg der IMCL im M. tibialis anterior gekommen war. Im M. soleus mit seinem höheren Ausgangsgehalt an intramyozellulären Lipiden war der Anstieg mit 52% gegenüber dem Ausgangswert geringer ausgefallen. Im Detail verlief der Anstieg des IMCL-Gehalts im M. tibialis anterior nach 24 Stunden im Durchschnitt auf 122%, nach 72 Stunden auf 295% und schließlich auf 369%. Im M. soleus kam es nach 24 Stunden zu keiner Veränderung gegenüber dem Ausgangswert. Nach 72 Stunden konnte auch hier ein Anstieg auf durchschnittlich 126% und nach 120 Stunden auf 152% gemessen werden. Wietek et al. beschreiben in Ihren Ergebnissen einen Fall, bei dem innerhalb der ersten 24 Stunden fälschlicherweise Fruktose aufgenommen wurde, welche somit zu einem niedrigen Fettsäurespiegel im Blut geführt hat. Korrespondierend hierzu lag der gemessene Gehalt an intramyozellulären Lipiden im Skelettmuskel nach einem Tag deutlich niedriger verglichen mit dem der anderen Probanden. Die Präsenz von Kohlenhydraten führte zu einer Steigerung der Fettsäureveresterung in Triglyzeride des Fettgewebes und dadurch zu einem verringerten Angebot an freien Fettsäuren zur Aufnahme in Myozyten bzw. als Speicher in Form von intramyozellulären Lipiden (91).

Auch zeigt die Studie von Stannard et al. (77) einen signifikanten Anstieg des intramyozellulären Lipidgehaltes nach 72 Stunden Fasten im M. vastus lateralis der Quadrizepsmuskulatur. Der IMCL-Gehalt verdoppelte sich hier nach insgesamt 72 Stunden. Dieser Anstieg war mit einer signifikanten Erniedrigung der Blutzuckerwerte und des Insulingehaltes im venösen Blut verbunden. Die

Konzentration der freien Fettsäuren und Triglyceride im Blutplasma hingegen waren gleichzeitig signifikant angestiegen.

Bei unserem eintägigen Protokoll konnte kein Anstieg der intramyozellulären Lipide beobachtet werden. Erklärt werden kann dies durch die kürzere Dauer der Nahrungskarenz in der vorliegenden Arbeit von nur zwölf Stunden. Es scheint also noch keine Stoffwechselumstellung von Glykolyse auf Fettsäureverwertung im Skelettmuskel stattgefunden zu haben. Vermutlich konnte die Präsenz von Kohlenhydraten im Blut während der kurzen Zeit nicht signifikant verringert werden bzw. dienen die intramyozellulären Lipide in diesem Zeitraum noch als Energielieferant für die Muskelzellen selbst. Dies bestätigt das Messergebnis in beiden Muskeln. Es kam zu einer Reduktion der IMCL von $28,8\% \pm 4,5\%$ im M. tibialis anterior. Dies zeigt, dass wahrscheinlich im gemessenen Zeitraum noch im Muskel vorhandene Triglyzeride (IMCL) als Energielieferant dienen und erst später Triglyzeride aus dem Fettgewebe mobilisiert werden um dann als freie Fettsäuren im Blutplasma zu zirkulieren. Erkennbar wäre dies am Anstieg der im Blut gemessenen Konzentration von Lipiden, welche allerdings bei dieser Studie nicht bestimmt wurden.

Alle Probanden hatten sich in den zwölf Stunden der Nahrungskarenz keiner körperlichen Belastung ausgesetzt. Interessant wäre hier auch eine Untersuchung unter Nahrungskarenz und unterschiedlicher Belastungsstufen, um genauere Erkenntnis über den Zeitpunkt der einsetzenden Lipolyse im Fettgewebe und Speicherung von freien Fettsäuren in Form der intramyozellulären Lipide zu gewinnen.

4.3 *Beeinflussung der intramyozellulären Lipide durch submaximale körperliche Belastung*

Körperliche Belastung, deren Intensität sowie Dauer führen zu unterschiedlichen Effekten bezüglich des intramyozellulären Lipidgehalts. In der hier vorliegenden Arbeit wurde untersucht, inwiefern sich eine einmalige submaximale körperliche Belastung von zwei Stunden in Form von zügigem Gehen auf den IMCL-Gehalt auswirkt. Die Belastung erfolgte mit 55 - 65% der maximalen aeroben Kapazität (VO_2max).

Da in früheren Studien bereits belegt wurde, dass die Reduktion des IMCL-Gehaltes abhängig von Dauer und Ausmaß der körperlichen Belastung zu sein scheint, wurde hier bewusst eine körperliche Belastung mit 55 - 65% der maximalen aeroben Kapazität (VO_2max) gewählt. Brechtel et al. (14) berichteten, dass bei Läufern das höchste Maß an IMCL-Reduktion bei ausdauernder submaximaler Belastung zu verzeichnen war.

Die Messung des IMCL-Gehaltes mittels 1H -MR-Spektroskopie wurde noch in der ersten Stunde nach der submaximalen Belastung ohne zwischenzeitliche Nahrungsaufnahme durchgeführt. Im M. tibialis anterior (vorwiegend Typ II Muskelfasern) kam es unter submaximaler Belastung zu einem deutlichen Abfall der intramyozellulären Lipide. Die Reduktion der intramyozellulären Lipide bei allen Probanden im M. tibialis anterior lag durchschnittlich bei $33,9\% \pm 4,8\%$. In dem vorwiegend aus Typ I Muskelfasern bestehenden M. soleus, der seine Energie hauptsächlich durch Fettoxidation gewinnt, ergab sich ebenso eine sichtbare Reduktion des IMCL-Gehalt um $17,3\% \pm 4,5\%$ verglichen zum Ausgangswert. Vergleicht man allerdings nicht die prozentuale, relative Abnahme, sondern die absolute, so kommt man zu dem Ergebnis, dass in beiden Muskeln eine ähnliche Reduktion stattgefunden hat. Im M. tibialis anterior hat die Reduktion demnach einen IMCL/Creatin-Wert von 0,90 und im M. soleus einen IMCL/Creatin-Wert von 0,97. Der scheinbare Zusammenhang zwischen Reduktion der intramyozellulären Lipide und im Muskel

vorherrschenden Muskelfasertyp konnte somit nicht bestätigt werden. Dieses Ergebnis wurde bereits in früheren Studien gefunden (14).

Thamer et al. (88) stellte eine Beziehung zwischen IMCL-Gehalt, Insulinsensitivität und der oxidativen Kapazität (gemessen mittels $VO_2\text{max}$) des Skelettmuskels fest, welche mit dem Training ansteigt. Demnach wurden zwei Muskeln mit unterschiedlicher oxidativer Kapazität (M. tibialis anterior und M. soleus) untersucht. Das Ergebnis zeigte, dass bei trainierten, insulinsensiblen Athleten ein hoher Gehalt an intramyozellulären Lipiden bestand. Bei untrainierten, insulinresistenten Probanden hingegen war die Situation umgekehrt. Sie wiesen einen hohen IMCL-Gehalt in der Skelettmuskulatur bei gleichzeitig bestehender Insulinresistenz auf. Diese Ergebnisse wurden zuvor von anderen Studiengruppen ähnlich nachgewiesen (31,42). Eine mögliche Erklärung für dieses paradoxe Ergebnis wäre, dass die Glukosetransportkapazität der Skelettmuskelzelle bei Ausdauertraining zunimmt (25,63). Der gesteigerte Glukosetransport führt zu vermehrter Synthese von Triglyzeriden und steigert gleichzeitig die Insulinsensitivität. Dieser Mechanismus kann im untrainierten Muskel nicht beobachtet werden, weil hier die Ansammlung der intramyozellulären Lipide durch kontinuierliche Kalorienzufuhr (v.a. durch Fett) den Trainingseffekt überdeckt (88).

Betrachtet man oben genannte Ergebnisse von Thamer et al. (88) und Jacob et al. (38), erkennt man einen gewissen Zusammenhang zwischen Trainingsstatus, IMCL-Gehalt und Insulinsensitivität. Zu sehen ist, dass bei direkten Nachkommen von Typ 2 Diabetikern mit bereits bestehender Insulinresistenz der Anteil an intramyozellulären Lipiden im Skelettmuskel gegenüber insulinsensiblen Probanden deutlich erhöht ist. Jedoch konnte auch ein erhöhter Gehalt an intramyozellulären Lipiden bei trainierten, insulinsensiblen Ausdauersportlern festgestellt werden. Diese Konstellation, die bereits durch Thamer et al. (88) beschrieben wurde, zeigt einen u-förmigen Verlauf der genannten Komponenten, wie Abb. 22 zeigt.

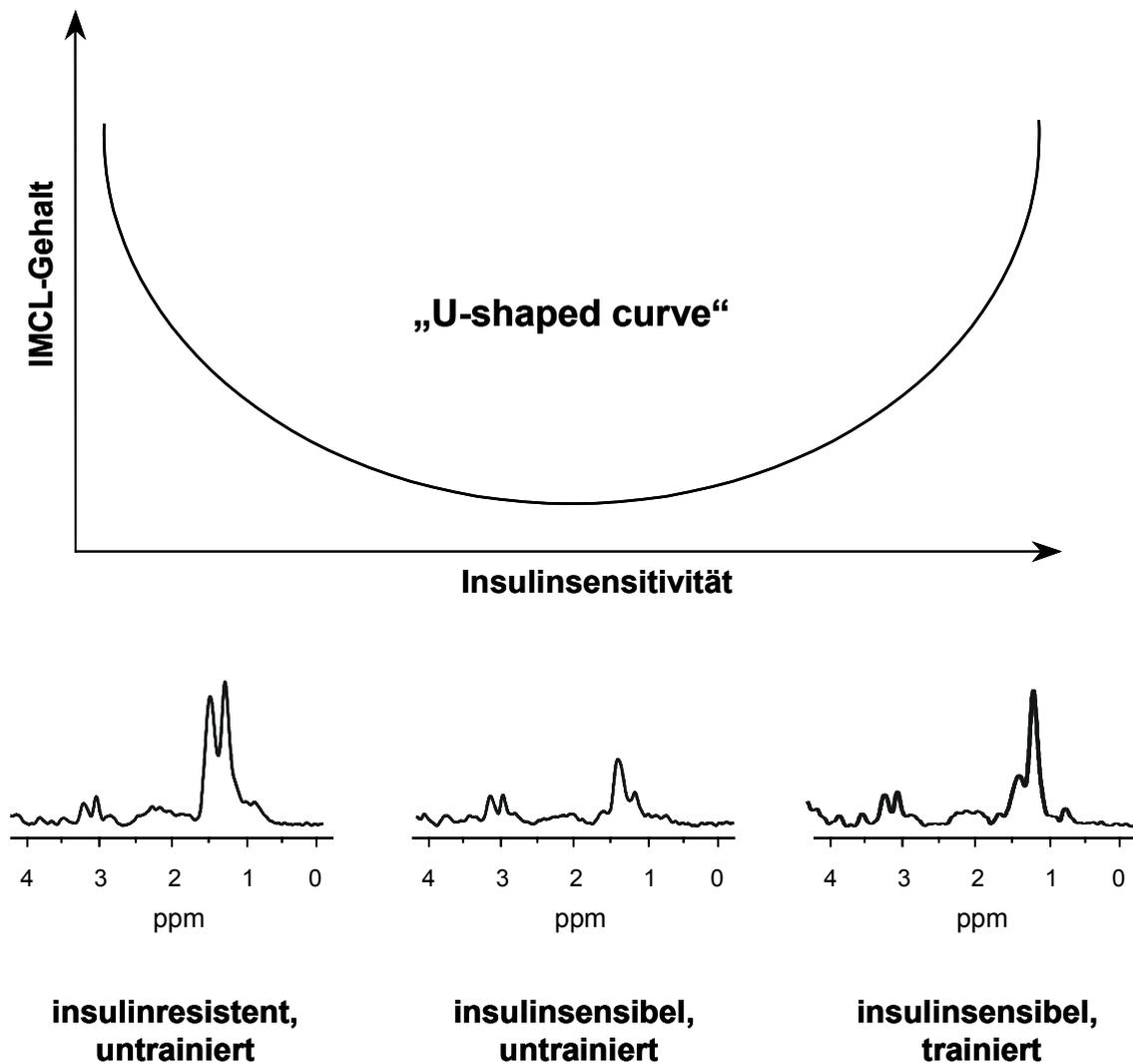


Abb. 22: Dargestellt ist der Vergleich von Muskelspektren zwischen untrainierten, insulinresistenten und trainierten, insulinsensiblen Personen, die beide ein hohen IMCL-Gehalt haben. Bei untrainierten Insulinsensiblen hingegen zeigt sich ein niedriger IMCL-Gehalt im Muskel.

Das Verhältnis von intramyozellulären Lipiden im Muskel zur Insulinsensitivität zeigt einen u-förmigen Verlauf.

Vergleicht man die in dieser Arbeit gemessene IMCL-Reduktion bei mäßiger sportlicher Belastung mit den Ergebnissen anderer Studiengruppen (8,14,18,48,75), so lassen sich bei unseren Untersuchungen ähnliche Ergebnisse finden.

Schrauwen-Hinderling et al. (75) untersuchte den Gehalt an intramyozellulären Lipiden mittels ¹H-MR-Spektroskopie bei Probanden nach zweiwöchigem Training. Die Gruppe kam ebenfalls zu dem Ergebnis, dass es zu einem signifikanten Abfall während submaximaler Belastung mit dem Fahrradergometer kommt. Nach einer Trainingsperiode von zwei Wochen allerdings konnte dann ein signifikanter Anstieg von $42 \pm 14\%$ verzeichnet werden. Während dieser Zeit kam es zu keiner signifikanten Veränderung der Fettoxidation und der Insulinsensitivität. Somit wurde bestätigt, dass die intramyozellulären Lipide vermutlich als kurzfristiger Energielieferant bei submaximaler Belastung dienen. Es muss davon ausgegangen werden, dass der Anstieg des IMCL-Gehaltes nach zwei Wochen eine sehr frühe Antwort auf das Training ist.

Bei Decombaz et al. (18) betrug die Reduktion der intramyozellulären Lipide nach zweistündiger Belastung im M. tibialis anterior 30%, ebenso konnte Krssak et al. (48) diesen Abfall auf 67% des Ausgangswertes nachweisen. Interessant scheint in diesem Zusammenhang der Zeitpunkt des IMCL-Anstieges bei initialem Abfall während und kurz nach Belastung zu sein.

Weiter untersuchten Decombaz et al. (19), inwiefern sich nach körperlicher Belastung der IMCL-Gehalt der Skelettmuskulatur (M. tibialis anterior) bei fettreicher (55% Fett) und fettreduzierter (15% Fett) Diät verändert. Verglichen wurden trainierte und untrainierte Probanden. Bei trainierten Personen lag der IMCL-Gehalt durchschnittlich 71% höher gegenüber untrainierten Probanden. So kam es bei allen Personen zu einer Reduktion um circa 25% während der zweistündigen Belastung. Nach einer 30-stündigen Erholungszeit wurde eine fettreiche Diät angeboten, die einen Wiederanstieg des intramyozellulären

Lipidgehalt um 30 - 45% unabhängig vom körperlichen Trainingstatus zur Folge hatte. Bei fettarmer Diät zeigte sich eine Reduzierung gegenüber dem Ausgangswert um 5 - 17%, wobei auch hier der Trainingsstatus keinen Einfluss auf die Veränderung des intramyozellulären Lipidgehalt hatte. Weiterhin kann der Verlust an intramyozellulären Lipiden durch die sportliche Bewegung mit fettreicher Ernährung innerhalb eines Tages kompensiert werden.

Malenfant et al. untersuchten übergewichtige Probanden, die einen erhöhten Gehalt an intramyozellulären Lipiden aufwiesen. Nach einer kalorienreduzierten Diät mit 700 kcal/Tag über 15 Wochen und körperlichem Training konnte eine Gewichtsreduktion von durchschnittlich 16 kg erzielt werden. In Muskelbiopsien des M. vastus lateralis wurde allerdings keine signifikante Reduktion der intramyozellulären Lipide bei den übergewichtigen Probanden festgestellt (53).

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kann vermutet werden, dass der anfängliche Abfall der intramyozellulären Lipide damit in Verbindung steht, dass diese Lipide während körperlicher Belastung als Energielieferanten fungieren. Interessanterweise zeigten unsere Ergebnisse, dass selbst in einer kleinen Gruppe von zwölf Probanden, die als trainiert eingestuft werden dürfen, in beiden Muskeltypen eine negative Korrelation zwischen dem intramyozellulären Lipidgehalt und dem Insulinsensitivitätsindex ISI (Matsuda) besteht.

Um den umfangreichen Zusammenhang zwischen intramyozellulären Lipiden und körperlicher Belastung sowie der Pathophysiologie der Skelettmuskulatur in Bezug auf die Insulinresistenz zu erforschen, bedarf es weiterer Untersuchungen.

5. Zusammenfassung

Ein erhöhter Gehalt an intramyozellulären Lipiden (IMCL) konnte in verschiedenen Untersuchungen bei Patienten mit verminderter Insulinsensitivität nachgewiesen werden. Diese Insulinresistenz tritt in Zusammenhang mit Adipositas, kardiovaskulären Erkrankungen, arterielle Hypertonie und Dyslipoproteinämie auf, und wird in der Kombination dieser Erkrankungen als Metabolisches Syndrom bezeichnet. Die biochemische Basis dieser Assoziation ist noch nicht im Detail geklärt. So gibt es epidemiologisch gesicherte Zusammenhänge zwischen verschiedenen Umweltfaktoren wie Fehlernährung (vorwiegend fettreiche Kost), körperliche Inaktivität und Stress. Das Metabolische Syndrom stellt eine polygenetische Erkrankung dar, die klinisch meist erst durch Hinzutreten von Umweltfaktoren manifest wird. Man geht davon aus, dass eine erhöhte Konzentration an freien Fettsäuren im Blut zu einer eingeschränkten insulinvermittelten Glukoseaufnahme in die Skelettmuskelzelle führt. Die daraus resultierende Insulinresistenz stellt hierbei neben einer gestörten Funktion der β -Zellen des Pankreas einen bedeutsamen Faktor in der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2 dar.

Bis dato sind genaue Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und dem muskulären Lipidstoffwechsel noch unklar. Intramyozelluläre Lipide scheinen mit der Insulinresistenz deutlich assoziiert zu sein. IMCL sind bei Adipositas, bei Erkrankten mit Diabetes mellitus Typ 2, aber auch bei deren gesunden Nachkommen ohne Manifestation einer diabetogenen Stoffwechsellage im Gegensatz zu Menschen ohne Typ 2 Diabetes in der Familienanamnese erhöht. Somit scheinen nach neueren Beobachtungen nicht nur die subkutan oder viszeral gelegenen Fette, sondern als drittes Kompartiment, auch die im Muskel gelegenen Lipide einen Einfluss auf die Insulinsensitivität zu haben.

Mittelpunkt dieser Arbeit war es, die kurzfristige Beeinflussung des muskulären Lipidstoffwechsels durch Ernährung und körperliche Bewegung zu untersuchen. An zwölf gesunden männlichen Probanden wurde studiert, inwieweit es zu Veränderungen innerhalb eines Tages unter unterschiedlichen Maßnahmen kommt. Die quantitative Bestimmung der intramyozellulären Lipide in Abhängigkeit der zirkadianen Rhythmik erfolgte bei den zwölf Probanden mittels Magnetresonanztomographie und Magnetresonanzspektroskopie. Die ^1H -Magnetresonanzspektroskopie bietet eine bewährte Möglichkeit zur nicht-invasiven Bestimmung dieser muskulären Lipide und deren Differenzierung in intra- und extramyozellulären Anteil. Die Magnetresonanz-Untersuchungen wurden an einem 3-Tesla-Ganzkörpertomographen (Magnetom Trio; Siemens Medical Solutions) durchgeführt. Eine zirkular polarisierende Volumenspule (Standard-Extremitätenspule; Siemens Erlangen) wurde zum Einstrahlen eines Hochfrequenzimpulses und zum Auslesen der Signale verwendet.

Untersucht wurden die Auswirkungen der folgenden Verhaltensweisen:

- Fasten bei geringer körperlicher Belastung, vorwiegend sitzende Tätigkeit
- Normalkost (60% Kohlenhydrate und 20% Fetten) bei geringer körperlicher Belastung, vorwiegend sitzende Tätigkeit
- Fettreiche Kost (60% Fett) bei geringer körperlicher Belastung, vorwiegend sitzende Tätigkeit
- Moderate aerobe Bewegung (zwei Stunden Walking) bei Normalkost

Die Veränderungen der intramyozellulären Lipide innerhalb von zwölf Stunden durch eine bestimmte Ernährungsform (fettreiche Kost, Nahrungskarenz) wurden mit dem Ergebnis bei Normalkost verglichen. Ebenso wurden die Ergebnisse des IMCL-Gehaltes nach längerer aerober Belastung und geringer körperlicher Belastung, jeweils kombiniert mit Normalkost, miteinander verglichen.

Unsere Untersuchungen kamen zu dem Ergebnis, dass sich bei einer fettreichen Ernährung innerhalb des Untersuchungszeitraumes von zwölf Stunden im Vergleich mit der Kontrollgruppe mit Normalkost keine signifikanten Unterschiede erkennen lassen ($p_{\text{Tib}} = 0,088$ und $p_{\text{Sol}} = 0,134$). Die prozentualen Veränderungen der intramyozellulären Lipide lagen hierbei im M. tibialis anterior bei $+0,6 \pm 2,3\%$. Im M. soleus ergab sich dagegen ein Wert von $-0,2 \pm 1,3\%$.

Eine fettreiche Diät über mehrere Tage führte bei anderen Studiengruppen vor allem im M. tibialis anterior zu einem signifikanten Anstieg der intramyozellulären Lipide und ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion der Insulinsensitivität. Fettarme Ernährung hingegen ließ keinen Unterschied erkennen. Die intravenöse Zufuhr einer Lipidinfusion führte nach sechs Stunden zu einer Erhöhung der intramyozellulären Lipidkonzentration um bis zu 50% gegenüber dem Ausgangswert und zur gleichzeitigen Abnahme der Insulinsensitivität. Der ausgebliebene signifikante Anstieg der IMCL in unseren Untersuchungen lässt sich mit einem vermutlich zu kurzen Messzeitraum erklären.

Die Beeinflussung der intramyozellulären Lipide durch Nahrungskarenz (Fasten) über einen Zeitraum von zwölf Stunden führte in der vorliegenden Arbeit zu einer Reduktion im M. tibialis anterior und M. soleus (IMCL_{Tib}: $-28,8 \pm 4,5\%$, IMCL_{Sol}: $-21,6 \pm 3,4\%$).

Bei einer Fastenperiode über mehrere Tage konnte zuvor in anderen Studien ein deutlicher Anstieg der intramyozellulären Lipide vor allem im M. tibialis anterior nachgewiesen werden. Ebenfalls stieg der IMCL-Gehalt im M. soleus, wobei auch hier eine Fastenperiode über mehrere Tage notwendig war. Bei Nahrungskarenz werden dem menschlichen Körper nicht genügend Kohlenhydrate zugeführt, sodass es zu einer katabolen Stoffwechsellage kommt. In einer kurzen Messzeit von zwölf Stunden, wie in unseren Untersuchungen erfolgt, adaptiert sich die Skelettmuskelzelle vermutlich an den Glukosemangel, indem eigene Speicher in Form von intramyozellulären Fetten

und Glykogen verbraucht werden, bevor es im weiteren Verlauf zur Lipolyse im Fettgewebe kommt. Die bei der Lipolyse des Fettgewebes frei werdenden Fettsäuren zirkulieren im Blut, bis sie von den Myozyten überproportional aufgenommen und in Form von intramyozellulären Lipide gespeichert werden, um als Energielieferanten zu fungieren.

Weitere Veränderungen der intramyozellulären Lipide konnten durch eine submaximale körperliche Belastung in Form von zweistündigem Laufen/Walking verursacht werden. Die sportliche Belastung bei Normalkost erfolgte hier mit etwa 55 - 65% der maximalen aeroben Kapazität (VO_{2max}). Hierbei kam es zu einer deutlichen Abnahme des intramyozellulären Lipidgehaltes in beiden untersuchten Muskeln ($IMCL_{Tib}$: $-33,9 \pm 4,9\%$, $IMCL_{Sol}$: $-17,3 \pm 4,5\%$). Eine mögliche Erklärung hierfür wäre die Überlegung, dass bei kurzfristiger körperlicher Belastung die intramyozellulären Lipide als Energielieferanten für den Muskelstoffwechsel dienen. Im Vergleich zwischen mäßiger aerober Bewegung und geringer körperlicher Belastung (überwiegend sitzende Tätigkeit) bei gleicher Ernährung (Normalkost) ergaben sich jedoch keine signifikanten Unterschiede im M. tibialis anterior ($p = 0,106$) und M. soleus ($p = 0,546$). Interessant wäre hierzu die Untersuchung weiterer Einflüsse auf den IMCL-Gehalt während des Tages bei normaler Ernährung bzw. welche Veränderungen sich bei körperlicher Belastung und unterschiedlichen Ernährungsformen ergeben.

Die vorliegende Studie zeigt, dass durch moderne Methoden der Magnetresonanztomographie und Magnetresonanzspektroskopie biochemische Vorgänge in der Skelettmuskulatur dargestellt werden können. Ebenso ist es möglich, genaue Verlaufsuntersuchungen einfach zu dokumentieren. Die Magnetresonanzmethoden sind somit den invasiven Gewebebiopsien weit überlegen.

Bezüglich den intramyozellulären Lipiden der Skelettmuskulatur ergab sich, dass in einem kurzen Zeitraum von zwölf Stunden die Art der Ernährung nur

geringfügig Einfluss auf den IMCL-Gehalt hat. Veränderungen treten allerdings bei längerfristigen Interventionen wie Fasten aber auch fettreicher Ernährung auf, wie vorausgegangene Studien bereits belegt haben. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass intramyozelluläre Lipide bei submaximaler körperlicher Belastung, aber auch während einer Nahrungskarenz (Fasten), als kurzfristige Energielieferanten für die Skelettmuskelzelle genutzt werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Bachmann OP, Dahl DB, Brechtel K, Machann J, Haap M, Maier T, Loviscach M, Stumvoll M, Claussen CD, Schick F, Häring HU, Jacob S. (2001)
Effects of intravenous and dietary lipid challenge on intramyocellular lipid content and relation with insulin sensitivity in humans.
Diabetes; 50: 2579-2584
2. Barnard RJ, Youngren JF (1992)
Regulation of glucose transport in skeletal muscle.
FASEB J; 6 (14): 3238-3244
3. Bloomgarden Z (2001)
Diabetes and obesity.
Diabetes Care; 23: 118-124
4. Boden G, Jadali F, White J, Liang Y, Mozzoli M, Chen X, Coleman E, Smith C (1991)
Effects of fat on insulin-stimulated carbohydrate metabolism in normal men.
J Clin Invest; 88: 960-966
5. Boden G, Chen X, Ruiz J, White JV, Rosetti L (1994)
Mechanism of fatty acid induced inhibition of glucose uptake
J Clin Invest; 93: 2438-2446
6. Boden G, Lebed B, Schatz M, Homko C, Lemieux S (2001)
Effects of acute changes of plasma free fatty acids on intramyocellular fat content and insulin resistance in healthy subjects.
Diabetes; 50: 1612-1617
7. Boesch C, Slotboom J, Hoppeler H, Kreis R (1997)
In vivo determination of intra-myocellular lipids in human muscle by means of localized ¹H-MR-spectroscopy.
Magn Reson Med; 37(4): 484-493
8. Boesch C, Decombaz J, Slotboom J, Kreis R (1999)
Observation of intramyocellular lipids by means of ¹H magnetic resonance spectroscopy.
Proc Nutr Soc; 58: 841-850
9. Boesch C, Kreis R (2001)
Dipolar coupling and ordering effects observed in magnetic resonance spectra of skeletal muscle.
NMR Biomed; 14(2): 140-148

10. Bongers H, Schick F, Skalej M, Jung WI, Stevens A (1992)
Localized in vivo ^1H spectroscopy of human skeletal muscle: normal and pathologic findings.
Magn Reson Imaging; 10: 957-964
11. Bottomley PA, Lee Y, Weiss RG (1997)
Total creatin in muscle: imaging and quantification with proton MR spectroscopy.
Radiology; 204: 403-410
12. Brechtel K, Machann J, Jacob S, Strempler A, Schick F, Häring HU, Claussen CD (1999)
In vivo ^1H -MR-Spektroskopie: Bestimmung des intra- und extramyozellulären Lipidgehalts in Abhängigkeit von der Insulinwirkung bei direkten Nachkommen von Typ-II-Diabetikern.
RoFo; 171: 113-120
13. Brechtel K, Dahl DB, Machann J, Bachmann OP, Wenzel I, Maier T, Claussen CD, Häring HU, Jacob S, Schick F (2001)
Fast elevation of intramyocellular lipid content in the presence of circulating free fatty acids and hyperinsulinemia: a dynamic ^1H -MRS study.
Magn Reson Med; 45: 179-183
14. Brechtel K, Niess AM, Machann J, Rett K, Schick F, Claussen CD, Dickhuth HH, Haering HU, Jacob S (2001)
Utilisation of intramyocellular lipids (IMCLs) during exercise as assessed by proton magnetic resonance spectroscopy (^1H -MRS).
Horm Metab Res; 33(2): 63-6
15. Brouns F, van der Vusse GJ (1998)
Utilization of lipids during exercise in human subjects: metabolic and dietary constraints.
Br J Nutr; 79(2): 117-128
16. Bruhn H, Frahm J, Gyngell ML, Merboldt KD, Hänicke W, Sauter R (1991)
Localized proton NMR spectroscopy using stimulated echos: Applications to human skeletal muscle in vivo.
Magn Reson Med; 17: 82-94
17. Cahill GF (1990)
Beta-cell deficiency, insulin resistance?
N Engl J Med; 318: 1268-1270

18. Decombaz J, Fleith M, Hoppeler H, Kreis R, Boesch C (2000)
Effect of diet on the replenishment of intramyocellular lipids after exercise.
Eur J Nutr; 39: 244-247
19. Decombaz J, Schmitt B, Ith M, Decarli B, Diem P, Kreis R, Hoppeler H, Boesch C (2001)
Postexercise fat intake repletes intramyocellular lipids but no faster in trained than in sedentary subjects.
Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol; 281(3): R760-769
20. DeFronzo RA (1988)
Lilly lecture 1987. The triumvirate: β -cell, muscle, liver: A collusion responsible for NIDDM.
Diabetes; 37: 667-687
21. DeFronzo RA, Ferrannini E (1991)
Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease.
Diabetes Care; 14 (3): 173-194
22. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E (1992)
Pathogenesis of NIDDM: A balanced overview.
Diabetes Care; 15: 318-387
23. Dyck DJ, Peters SJ, Gorski J, Keizer H, Kiens B, Liu S, Richter EA, Spriet LL, van der Vusse GJ, Bonen A (1997)
Functional differences in lipid metabolism in resting skeletal muscle of various fibre types.
Am J Physiol; 272: 340-351
24. Edgerton VR, Smith JL, Simpson DR (1975)
Muscle fiber type population of human leg muscles.
Histochem J; 7: 259-266
25. Etgen JGJ, Jensen J, Wilson CM, Hunt DG, Cushman SW, Ivy JL (1997)
Exercise training reverses insulin resistance in muscle by enhanced recruitment of GLUT-4 to cell surface.
Am J Physiol; 272 (5): 864-869
26. Ferrannini E, Haeflner SM, Mitchell BD, Stern MP (1991)
Hyperinsulinaemia: the key feature of cardiovascular and metabolic syndrome.
Diabetologia; 34: 416-422

27. Ferraninni E (1998)
Insulinresistence versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus.
Endocr Rev;19: 477-490
28. Forouhi NG, Jenkinson G, Thomas EL, Mullick S, Mierisova S, Bhonsle U, McKeigue PM, Bell JD (1999)
Relation of triglyceride stores in skeletal muscle cells to central obesity in insulin sensitivity in European and South Asian men.
Diabetologia; 42: 932-935
29. Gerich JE (1998)
The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin sensitivity.
Endocr Rev; 19: 491-503
30. Goldstein BJ (2003)
Insulin resistance: From begin to type 2 diabetes mellitus
Rev Cardiovasc Med;4(6): 3-10
31. Goodpaster BH, He J, Watkins S, Kelley DE (2001)
Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes.
J Clin Endocrinol Metab; 86: 5755-5761
32. Groop LC, Bonadonna RC, Simonson DC, Petrides AS, Shank M, DeFronzo RA (1992)
Effect of insulin on oxidative and nonoxidativ pathways of free fatty acid metabolism in human obesity.
Amer J Physiology; 263(1): E79-84
33. Grundy SM (1999 a)
Hypertriglyceridemia, insulin reststance and the metabolic syndrom.
Am J Cardiol; 83: 25F-29F
34. Grundy S, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SC, Sowers JR (1999 b)
Diabetes and cardiovascular disease: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association.
Circulation; 100 (10): 1134-1146
35. Haering HU (1991)
The insulin receptor: signalling mechanism and contribution to the pathogenesis of insulin resistance.
Diabetologia; 34: 848-861

36. Howald H, Boesch C, Kreis R, Matter S, Billete R, Essen-Gustavsson B, Hoppeler H (2002)
Content of intramyocellular lipids derived by electron microscopy, biochemical assays, and ¹H-MR spectroscopy.
J Appl Physiol; 92: 2264-2272
37. Hwang JH, Pan JW, Heydari S, Hetherington HP, Stein DT (2001)
Regional differences in intramyocellular lipids in human observed by in vivo ¹H-MR spectroscopic imaging.
J Appl Physiol; 90: 1267-1274
38. Jacob S, Machann J, Rett K, Brechtel K, Volk A, Renn W, Maerker E, Matthaei S, Schick F, Claussen CD, Häring HU (1999)
Association of increased intramyocellular lipid content with insulin resistance in lean nondiabetic offspring of type 2 diabetic subjects.
Diabetes; 48: 1113-1119
39. Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Furuta M, Araki-Sasaki R, Hori Y, Yano Y, Adachi Y (2001)
Homeostasis model assessment is a reliable indicator of insulin resistance during follow-up of patients with type 2 diabetes.
Diabetes Care; 24: 362-365
40. Kelley DE, Slasky BS, Janosky J (1991)
Skeletal muscle density: effects of obesity and non-insulin dependent diabetes mellitus.
J Clin Nutr; 54:509-515
41. Kelley DE, Mokan M, Simoneau JA, Mandarino LJ (1993)
Interaction between glucose and free fatty acid metabolism in skeletal muscle.
J Clin Invest; 92: 91-98
42. Kelley DE, Goodpaster B, Wing RR, Simoneau JA (1999)
Skeletal muscle fatty acid metabolism in association with insulin resistance, obesity and weight loss.
Am Physiol J; 277: 1130-1141
43. Klinke R, Silbernagl S (1996)
Lehrbuch der Physiologie
2. Auflage, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York
44. Koletzko B, Girardet JP, Klish W, Tabacco O (2002)
Obesity in children and adolescents worldwide: current views and future directions.
J Ped Gastroenterol Nutr; 35: 205-212

45. Kreis R, Boesch C (1994)
Liquid-crystal-like structures of human muscle demonstrated by in vivo observation of direct dipolar coupling in localized proton magnetic resonance spectroscopy.
J Magn Reson; 104: 189-192
46. Kreis R, Boesch C (1996)
Spatially localized, one- and two-dimensional NMR spectroscopy and in vivo application to human muscle.
J Magn Reson; 113: 103-118
47. Krššák M, Petersen FK, Dresner A, DiPietro L, Vogel SM, Rothman DL, Roden M, Shulman GI (1999)
Intramyocellular lipid concentrations are correlated with insulin sensitivity in humans: a ^1H NMR spectroscopy study.
Diabetologia; 42(1): 113-116
48. Krššák M, Petersen KF, Bergeron R, Price T, Laurent D, Rothman DL, Roden M, Shulman GI (2000)
Intramuscular glycogen and intramyocellular lipid utilization during prolonged exercise and recovery in man: a ^{13}C and ^1H nuclear magnetic resonance spectroscopy study.
J Clin Endocrinol Metab; 85: 748-754
49. Lillioja S, Young AA, Cutler CL, Ivy JL, Abbott WG, Zawadzki JK, Yik-Jarvinen H, Christin L, Secomb TW, Bogardus C (1987)
Skeletal muscle capillary density and fiber type are possible determinant of in vivo insulin resistance in man.
J Clin Invest; 80: 415-424
50. Lithell H, Orlander J, Schele R, Sjodin B, Karlsson J (1979)
Changes in lipoprotein-lipase activity and lipid stores in human skeletal muscle with prolonged heavy exercise.
Acta Physiol Scand; 107(3): 257-261
51. Loeffler G (2001)
Basiswissen Biochemie mit Pathobiochemie
4. korrigierte Auflage, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
52. Machann J, Wietek B, Claussen CD, Schick F (2003)
 ^1H MR-Spektroskopie bei 1,5 T und 3 T.
Fortschr Röntgenstr; 175(1): 295
53. Malenfant P, Tremblay A, Doucet E, Imbeault P, Simoneau JA, Joanisse DR (2001)
Elevated intramyocellular lipid concentration in obese subjects is not reduced after diet and exercise training.
Am J Physiol Endocrinol Metab; 280: 632-639

54. Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR (1992)
Role of glucose and insulin resistance in development of type 2 diabetes mellitus: Results of 25-year follow-up study.
Lancet; 340: 925-929
55. Matsuda M, DeFronzo RA (1999)
Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp.
Diabetes care; 22(9): 1462-1470
56. Mensink GBM, Lampert T, Bergmann E (2005)
Übergewicht und Adipositas in Deutschland 1984-2003.
online publiziert November 2005
57. Nickey MS, Weidner MD, Gavigan KE, Zheng D, Tyndall GL, Houmard JA (1995)
The insulin action-fiber type relationship in humans is muscle specific.
Am J Physiol Endocrinol; 269: 150-154
58. Nuutila P, Knuuti MJ, Raitakari M, Ruotsalainen U, Teras M, Voipio-Pulkki LM, Haaparanta M, Solin O, Wegelius U, Yki-Jarvinen H (1994)
Effect of antilipolysis on heart and skeletal muscle glucose uptake in overnight fasted humans.
Am Physiol J; 267: 941-946
59. Oakes ND, Cooney GJ, Camilleri S, Chisholm D, Kraegen E (1997)
Mechanism of liver and muscle insulin resistance induced by chronic high-fat feeding.
Diabetes; 46: 1768-1774
60. Pan DA, Lillioja S, Kriketo AD, Milner MR, Baur LA, Bogardus C, Jenkins AB, Storlien LH (1997)
Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action.
Diabetes; 46: 983-988
61. Perseghin G, Scifo P, de Cobelli F, Pagliato E, Battezzati A, Arcelloni C, Vanzulli A, Testolin G, Pozza G, Del Maschio A, Luzi L (1999)
Intramyocellular triglycerid content is a determinant of in vivo insulin resistance in humans: a ^1H - ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy assessment in offspring of type 2 diabetic parents.
Diabetes; 48: 1600-1606
62. Phillips DI, Caddy S, Illic V, Fielding BA, Frayn KN, Borthwick AC, Taylor R (1996)
Intramuscular triglyceride and muscle insulin sensitivity: Evidence for a relationship in nondiabetic subjects.
Metabolism; 45(8): 947-950

63. Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, Kahn BB, Ohkuwa T, Vinten J, Galbo H (1990)
Effects of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle.
Am J Physiol; 259 (6): 778-786
64. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA (1963)
The glucose-fatty acid cycle: in obesity and maturity onset diabetes mellitus.
Lancet; 1: 784-789
65. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA (1965)
The glucose-fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus.
Ann NY Acad Sci; 131: 324-333
66. Reaven GM (1988)
Role of insulin resistance in human disease.
Diabetes; 37: 1595-1607
67. Renz-Polster H, Braun J (2001)
Basislehrbuch Innere Medizin
2. Auflage, Urban & Fischer Verlag München, Jena
68. Rico-Sanz J, Hajnal JV, Thomas EL, Mierisova S, Ala-Korpela M, Bell JD (1998)
Intracellular and extracellular skeletal muscle triglyceride metabolism during alternating intensity exercise in humans.
J Physiol; 510(2): 615-622
69. Rico-Sanz J, Moosavi M, Thomas EL, McCarthy J, Coutts GA, Saeed N, Bell JD (2000)
In vivo evaluation of the effects of continuous exercise on skeletal muscle triglycerides in trained humans.
Lipids; 35(12): 1313-1318
70. Roden M, Price TB, Perseghin G, Falk Petersen K, Rothman D, Cline GW, Shulman GI (1996)
Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans
J Clin Invest 97: 2859-2865
71. Schick F, Bongers H, Kurz S, Jung WI, Pfeffer M, Otto L (1993 a)
Localized proton MR spectroscopy of citrate in vitro and of human prostate in vivo at 1,5T.
Magn Reson Med; 29: 38-43

72. Schick F, Eismann B, Jung WI, Bongers H, Bunse M, Lutz O (1993 b)
Comparison of localized proton NMR signals of skeletal muscle and fat tissue in vivo: two lipid compartments in muscle tissue.
Magn Reson Med; 29: 158-167
73. Schick F (2005)
Whole-body MRI at high field: technical limits and clinical potential.
Eur Radiol; 15: 946-959
74. Schrauwen P, van Aggel-Leijssen DP, Hul G, Wagenmakers AJ, Vidal H, Saris WH, van Baak MA (2002)
The effect of 3 month low intensity endurance training on fat oxidation and acyl-CoA carboxylase-2 expression.
Diabetes; 51: 2220-2226
75. Schrauwen-Hinderling VB, Schrauwen P, Hesselink MK, van Engelshoven JM, Nicolay K, Saris WH, Kessels AG, Kooi ME (2003)
The increase in intramyocellular lipid content is a very early response to training.
J Clin Endocrinol Metab; 88(4): 1610-1616
76. Schrauwen-Hinderling VB, Kooi ME, Hesselink MK, Moonen-Kornips E, Schaart G, Mustard KJ, Hardie DG, Saris WH, Nicolay K, Schrauwen P (2005)
Intramyocellular lipid content and molecular adaptations in response to a 1-week high-fat diet.
Obes Res; 13 (12): 2088-2094
77. Stannard SR, Thompson MW, Fairbairn K, Huard B, Sachinwalla T, Thompson CH (2002)
Fasting for 72 h increases intramyocellular lipid content in nondiabetic, physically fit men.
Am J Physiol Endocrinol Metab; 283(6): 1185-91
78. Staron RS (1997)
Human skeletal muscle fiber types: delineation, development, and distribution.
Can J Appl Physiol; 22(4): 307-327
79. Stein DT, Szczepaniak LS, Schick F, Dobbins R, Babcock EE, Malloy CR, McGarry JD (1997)
Validation of ¹H MRS measurements of intracellular lipids in vivo.
Abstract Book of the 5th Annual Scientific Meeting of the International Society of Magnetic Resonance in Medicine

80. Stein DT, Szczepaniak L, Dobbins R, Snell P, McGarry JD (1998)
Skeletal muscle triglycerides stores are increased in insulin resistant states.
Proc Ann Mtg Int Soc Magn Reson Med 6th Sydney, Australia, p. 388
81. Stein DT, Szczepaniak L, Dobbins R, McGarry JD (1999)
Increasing intramyocellular triglyceride stores are associated with impaired glucose tolerance and NIDDM.
Diabetes; 48(1): A287
82. Stettler R, Ith M, Acheson KJ, Decombaz J, Boesch C, Tappy L, Binnert C (2005)
Interaction between dietary lipids and physical inactivity on insulin sensitivity and on intramyocellular lipids in healthy men.
Diabetes Care; 28(6):1404-1409
83. Storlien L, Jenkins A, Chisholm D, Pascoe W, Khouri S, Kraegen E (1991)
Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats: relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acid in muscle phospholipid.
Diabetes; 40: 280-289
84. Stremper A (2000)
Bestimmung des Lipidgehalts in der Skelettmuskulatur mit modernen MR-Methoden bei Nachkommen von Typ 2 Diabetikern.
Medizinische Dissertationsarbeit; Universität Tübingen
85. Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE (1990)
The body mass index of twins who have been reared apart.
New Eng J Med; 322: 1483-1487
86. Szczepaniak LS, Stein DT, Schick F, Garg A, McGarry JD, (1997)
Presence of intramyocellular lipids in skeletal muscle of subjects with congenital lipodystrophy measured by ¹H MRS.
Proc Int Soc Magn Reson Med. 5th meeting: 1334A
87. Szczepaniak LS, Babcock EE, Schick F, Dobbins RL, Garg A, Burns DK, McGarry JD, Stein DT (1999)
Measurement of intramyocellular triglycerid stores by ¹H spectroscopy: validation in vivo.
Am J Physiol; 276: 977-989

88. Thamer C, Machann J, Bachmann OP, Haap M, Dahl D, Wietek B, Tschritter O, Niess A, Brechtel K, Fritsche A, Claussen CD, Jacob S, Schick F, Häring HU, Stumvoll M (2003)
Intramyocellular Lipids: Anthropometrics determinants and relationship with maximal aerobic capacity and insulin sensitivity.
J Clin Endocrinol Metab; 88:1785-1791
89. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR (1990)
Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents.
Ann Intern Med; 113: 909-915
90. Wendling PS, Peters SJ, Heigenhauser GJF, Spriet LL (1996)
Variability of triglycerol content in human skeletal muscle biopsy samples.
J Appl Physiol; 81: 1150-1155
91. Wietek BM, Machann J, Mader I, Thamer C, Häring HU, Claussen CD, Stumvoll M, Schick F (2004)
Muscle type dependent increase in intramyocellular lipids during prolonged fasting of human subjects: a proton MRS study.
Horm Metab Res; 36(9): 639-644
92. Zimmet P, Dowse G, Krsika A, Sejeantson S (1990)
Current perspectives in the epidemiology of non-insulin-dependent (type II) diabetes mellitus.
Diab Nutr Metab; 3 (1): 3-15

7. *Abkürzungsverzeichnis*

^{13}C	Kohlenstoff
^{19}F	Fluor
^1H	Protonen- (Wasserstoff)
^{31}P	Phosphor-
Abb.	Abbildung
acq.	Akquisitionen
ADA	American Diabetes Association
ADP	Adenosindiphosphat
AHA	American Heart Association
AMV	Atemminutenvolumen
ATP	Adenosintriphosphat
B_0	homogenes statisches Magnetfeld
BMI	Body-mass-Index
$(\text{CH}_2)_n$	Methylen-
CH_3	Methyl-
Cho	Cholin
cm	Zentimeter
cm^3	Kubikzentimeter
Cr_2	Methylengruppe des Creatin
Cr_3	Methylgruppe des Creatin
Cs	Carnosin
CSI	Chemical Shift Imaging
Ct	Carnitin
EMCL	extramyozelluläre Lipide
et al.	und andere
FFS	freie Fettsäuren
g	Gramm
GLUT	Glukose-Transporter
IMCL	intramyozelluläre Lipide

kcal	Kilokalorien
kg	Kilogramm
l	Liter
m	Meter
m ²	Quadratmeter
M.	Musculus
MHz	Megahertz
min	Minute
ml	Milliliter
mmol	Millimol
MR	Magnetresonanz-
MRS	Magnet-Resonanz-Spektroskopie
MRSI	Magnetic Resonanz Spectroscopy Imaging
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
ms	Millisekunde
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
oGTT	oraler Glukose-Toleranz -Test
PD	Protonendichte
ppm	parts per million, wobei ein ppm 63,2 Hz bei einer Feldstärke von 1,5 Tesla entspricht
rpm	rates per minute
RQ	Respiratorischer Quotient
s	Sekunde
SEM	Fehler des Mittelwertes, <i>engl. Standard Error of the Mean</i>
Sol/SOL	Musculus soleus
STEAM	Stimulated Echo Acquisition Mode
T	Tesla
T ₁	Spin-Gitter-Relaxationzeit
T ₂	Spin-Spin-Relaxationzeit
TA	Musculus tibialis anterior
Tau	Taurin
TE	echo time

Tib/TIB	Musculus tibialis anterior
TM	mixing time
TMA	Trimethylammonium
TR	repetition time
VCO ₂	expiratorische Kohlenstoffdioxid-Abgabe pro Zeiteinheit
VO ₂	inspiratorische Sauerstoffaufnahme pro Zeiteinheit
VO ₂ max	maximale aerobe Kapazität
VOI	Volume of Interest
W	Watt
WHO	World Health Organisation

Danksagung

Die vorliegende Dissertationsarbeit entstand am Lehrstuhl von Herrn Prof. Dr. med. Claus D. Claussen in der Abteilung für Experimentelle Radiologie der Radiologischen Universitätsklinik Tübingen.

Die Betreuung dieser Arbeit erfolgte durch meinen Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Fritz Schick, Leiter der Sektion für Experimentelle Radiologie, der durch seine immer unterstützende und hilfsbereite Art maßgeblich an der Entstehung dieser Arbeit mitgewirkt hat. Mein aufrichtigster Dank gilt ihm.

Besonders möchte ich mich herzlichst bei Herrn Dipl. - Phys. Jürgen Machann für seine ständige Hilfe, seine Anregungen und Ermutigungen danken. Er hat mir immer wieder geduldig zugehört und sich unermüdlich mit meinen Fragen auseinandergesetzt.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der vorliegenden Arbeit danke ich Herrn Dr. rer. nat. Walter Renn, Medizinische Universitätsklinik.

Frau Elke Märker aus der Abteilung IV der Medizinischen Universitätsklinik danke ich recht herzlich für die Durchführung der metabolischen Untersuchungen.

Zuletzt möchte ich mich herzlich bei meinen Eltern Manfred und Rosemarie Etzel bedanken, die mich stets liebevoll unterstützt haben und mir das Studium der Medizin ermöglicht haben.

Lebenslauf

Am 18. September 1978 wurde ich - Manuela Etzel - in Esslingen am Neckar als Tochter der Eheleute Manfred und Rosemarie Etzel geboren.

Schulbildung

<i>09/1985 – 06/1989</i>	Brunnenschule in Reichenbach an der Fils
<i>09/1989 – 06/1998</i>	Gymnasium Plochingen mit Erlangung der allgemeinen Hochschulreife im Jahre 1998

Berufliche Tätigkeit

<i>09/1998 – 08/1999</i>	Freiwilliges Soziales Jahr in der Orthopädischen Klinik Markgröningen
<i>02/1999 – 09/1999</i>	Ausbildung zur Rettungssanitäterin an der DRK-Landesschule Pfalzgrafenweiler
<i>10/1999 – 02/2005</i>	Beschäftigung als Rettungssanitäterin beim Deutschen Roten Kreuz Esslingen e.V.

Hochschulbildung

<i>04/2000</i>	Beginn des Medizinstudiums an der Eberhard Karls Universität Tübingen
<i>03/2002</i>	Ärztliche Vorprüfung
<i>03/2003</i>	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
<i>03/2005</i>	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
<i>04/2005 – 04/2006</i>	Praktisches Jahr am Paracelsus-Krankenhaus Ruit
<i>23/05/2006</i>	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
<i>seit 07/2006</i>	Assistenzärztin in der Abteilung für Anästhesiologie und Intensivmedizin am Klinikum Schwäbisch Gmünd