

## Untersuchungen über die Wirkung von Diät, Tolbutamid und Buformin sowie deren Kombination auf Körpergewicht und verschiedene Stoffwechselgrößen bei Diabetikern\*

### II. Freie Fettsäuren, Ketonkörper, Triglyceride und Cholesterin im Blut

R. KATTERMANN, A. APPELS, K. HUBRICH, H. PROSCHEK, H. D. SÖLING und W. CREUTZFELDT

Medizinische Universitäts-Klinik, Göttingen (Direktor: Prof. Dr. med. W. CREUTZFELDT)

Eingegangen am 11. November 1967

*Investigations of the effects of diet, tolbutamide and buformin and their combination on body weight and several metabolic parameters in diabetics. II. Free fatty acids, ketone bodies, triglycerides and cholesterol in blood*

*Summary.* 100 maturity-onset diabetics were kept under strict clinical supervision for 13 weeks, and the influence of a treatment with buformin or tolbutamide on several parameters was investigated. Beyond the effect of dietetic control as such, the following pharmacodynamic properties could be shown: — 1. buformin in a dosage of  $3 \times 100$  mg/day leads to a significant increase of FFA and ketone bodies and to a decrease of cholesterol without an unequivocal effect on triglycerides; — 2. tolbutamide in a dosage of 1–2 g/day induces a slight, not significant decrease of FFA and ketone bodies without an unequivocal effect on cholesterol and triglycerides. — These results agree to a large extent with data in the literature. A remarkable and hitherto undescribed influence of biguanides on fat and ketone body metabolism was observed, which is best explained by the lowering of insulin levels.

*Etudes de l'action du régime, du tolbutamide et de la buformine, ainsi que de leur association, sur le poids du corps et sur différents paramètres métaboliques chez des diabétiques. II. Acides gras libres, corps cétoniques, triglycérides et cholestérol du sang*

*Résumé.* 100 diabétiques d'âge mûr ont été gardés pendant 13 semaines sous contrôle clinique rigoureux, et on a étudié une série de paramètres sous l'influence d'un traitement avec le tolbutamide et la buformine. Mis à part l'effet du contrôle uniquement diététique, on peut admettre les propriétés pharmacodynamiques suivantes: — 1. La buformine, à la dose de  $3 \times 100$  mg, provoque une

augmentation significative des FFA et des corps cétoniques, une chute du cholestérol, sans action précise sur les triglycérides. — 2. Le tolbutamide, à la dose de 1 à 2 g, provoque une chute légère, non-significative des FFA et des corps cétoniques sans action précise sur le cholestérol et les triglycérides. — Ces résultats sont pour la plupart en accord avec les données de la littérature. Il faut noter l'influence exercée par les biguanides sur le métabolisme des acides gras et des corps cétoniques, fait non encore décrit jusqu'à maintenant; ceci peut s'expliquer avant tout par l'abaissement du taux d'insuline.

*Zusammenfassung.* 100 Altersdiabetiker wurden über 13 Wochen in strenger klinischer Kontrolle gehalten und dabei eine Reihe von Parametern unter Einfluß einer Behandlung mit Tolbutamid und Buformin untersucht. Über den Effekt einer rein diätetischen Kontrolle hinaus ließen sich folgende pharmakodynamische Eigenschaften wahrscheinlich machen: — 1. Buformin bewirkt in einer Dosierung von  $3 \times 100$  mg einen signifikanten Anstieg der FFS und Ketonkörper, einen Abfall des Cholesterins ohne deutliche Wirkung auf die Triglyceride. — 2. Tolbutamid bewirkt in einer Dosierung von 1 bis 2 g einen leichten, nicht signifikanten Abfall der FFS und der Ketonkörper ohne deutliche Wirkung auf das Cholesterin und die Triglyceride. — Diese Ergebnisse stehen zum großen Teil in Einklang mit den Daten der Literatur. Bemerkenswert erscheint der bisher noch nicht beschriebene Einfluß der Biguanide auf den Fettsäure- und Ketonkörperstoffwechsel, der wohl am ehesten durch die Senkung des Insulinspiegels erklärt werden kann.

*Key-words:* Maturity-onset diabetes, controlled comparative study, diet, tolbutamide, buformin, free fatty acids, ketone bodies, triglycerides, cholesterol.

Schon seit langem sind neben der gestörten Kohlenhydratverwertung bei Diabetikern pathologische Veränderungen in der Zusammensetzung und im Stoffwechsel der Blutlipide bekannt [1, 3, 5, 7, 8, 11, 14, 15, 20, 24, 25, 26, 30, 32, 35, 36, 39, 42, 43, 44]. Zahlreiche Autoren [1, 14, 20, 48] sind sich ebenfalls darin einig, daß der relative Gesundheitszustand und die Lebenserwartung des Diabetikers ganz wesentlich durch die am Gefäßsystem auftretenden Veränderungen — die sogenannten arteriosklerotischen Spätkomplikationen — bestimmt werden. Durch klinische [1, 13, 48] und tierexperimentelle [9, 34, 53] Untersuchungen ist gesichert, daß eine Korrelation zwischen der Höhe der

Blutlipide und den arteriosklerotischen Gefäßveränderungen besteht. Der Wert oder Unwert therapeutischer Maßnahmen bei Diabetikern sollte demnach nicht nur an der Reduktion des Blutzuckers gemessen werden, sondern auch an der Normalisierung der Lipide.

Im Rahmen einer Studie über die Wirksamkeit peroraler Antidiabetica auf Körpergewicht, Blutzucker und Glucosetoleranz sowie die Konzentration des Insulins [4] lag es daher nahe, die Einflüsse von Diät, Tolbutamid und *N*<sub>1</sub>-*n*-Butylbiguanid sowie Kombinationen dieser Therapieformen auf verschiedene Parameter des Fettstoffwechsels zu untersuchen.

#### *Untersuchungsgut und Methoden*

Die Einteilung der Diabetiker in die verschiedenen Gruppen ist im einzelnen in der vorangehenden Arbeit

\* Wesentliche Teile dieser Publikation sind in Dissertationsarbeiten enthalten, die von K.H. und H.P. der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen vorgelegt wurden.

[4] beschrieben und dort auf Tabelle 1 zusammengestellt.

Hinsichtlich der Dosierung der verwendeten Substanzen, ihrer Verträglichkeit, der Behandlungsdauer, Einteilung der Versuchsperioden und der Kriterien für die Einstellung des Diabetes sei ebenfalls auf die vorangehende Mitteilung [4] verwiesen.

In 2-wöchentlichen Abständen wurden folgende Metabolite in Vollblut oder Serum des nüchternen Patienten bestimmt:

bei Modell- bzw. Wiederfindungsversuchen in Bestätigung der Angaben von BERGMAYER u. BERNT [6] als nicht notwendig. Korrektur der Extinktionszunahme und Berechnung wie bei Acetacetat.

Die Bestimmung der freien Fettsäuren (FFS) im Serum erfolgte nach DOLE u. MEINERTZ [19] und die des Cholesterins mit einer Methode ohne Extraktion nach PEARSON et al. [37]. Die Triglyceride ermittelten wir nach der enzymatischen Methode von EGGSTEIN u. KREUTZ [21] als Differenz zwischen Gesamtglycerin (nach Verseifung mit äthanolischer Kalilauge) und freiem Glycerin. Es erwies sich dabei als nötig, bei der Bestimmung des

Tabelle 1. Einfluß der verschiedenen Behandlungsformen auf die Konzentrationen der freien Fettsäuren (FFS). Angabe des Mittelwertes in  $\mu\text{Val/Liter} \pm 1 \text{ s}$ . Die Signifikanz der Kontrollperiode beziehen sich auf den Ausgangswert 0, die der Behandlungsperiode auf den letzten Wert der Kontrollperiode. (ns = nicht signifikant)

Gruppe (Anzahl) Medikation	Kontrollperiode (KP)			Behandlungsperiode (BP)			
	0	2	4	6	8	10	12 Wochen
I (n = 10) KP: Keine BP: Placebo	713 ± 180	730 ± 212	780 ± 165 ns	676 ± 145	645 ± 197	639 ± 104	621 ± 101 p = 0.01
II (n = 22) KP: Keine BP: Buformin	877 ± 287	736 ± 182	762 ± 203 p = 0.05	692 ± 236	744 ± 217	762 ± 265	748 ± 195 ns
III (n = 17) KP: Tolbutamid BP: Buformin	871 ± 219	799 ± 225	751 ± 177 p = 0.05	780 ± 167	779 ± 216	723 ± 164	841 ± 182 p = 0.05
IV (n = 25) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Buf.	920 ± 173	803 ± 194	799 ± 153 p = 0.01	766 ± 167	786 ± 214	802 ± 203	823 ± 212 ns
V (n = 11) KP: Keine BP: Tolbutamid	776 ± 196	763 ± 165	715 ± 120 p = 0.05	667 ± 128	721 ± 80	681 ± 78	682 ± 107 ns
VI (n = 15) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Plac.	800 ± 196	718 ± 213	677 ± 174 p = 0.05	752 ± 186	707 ± 172	758 ± 137	741 ± 168 ns

#### Acetacetat und $\beta$ -Hydroxybutyrat:

Für die enzymatische Bestimmung der beiden Ketonkörper benutzen wir folgendes, auf den Angaben von WILLIAMSON et al. [52] sowie BERGMAYER u. BERNT [6] beruhendes Verfahren: Für die Acetacetatbestimmung wurden in eine 2 cm-Küvette 2,5 ml des neutralisierten, im Verhältnis 1:1 enteweißten Vollblutextraktes (Einzelheiten siehe bei [4]) eingesetzt. Es wurden 1,40 ml eines 0,4 M Triäthanolaminpuffers  $\text{pH}$  7,0 und 0,05 ml NADH (DPNH)-Lösung (10 mg/ml) zugegeben und die Reaktion mit 0,02 ml HBDH-Suspension (5 mg Enzymprotein/ml) gestartet. Bei jeder Testserie wurde eine Vergleichsküvette mit 2,5 ml  $\text{H}_2\text{O}$  bidest. statt Extrakt mitgeführt. In der Regel war die Umsetzung des Acetacetats nach 40–50 min beendet; die Extinktionsabnahme wurde mit dem „Schleich“ der Vergleichsküvette korrigiert und über den Extinktionskoeffizienten des NADH bei 366  $\mu$  der Acetacetatgehalt in  $\mu\text{Mol/g}$  Blut berechnet. Im übrigen wurde die Bestimmung des Acetacetats nach Umsetzung des Pyruvats mit LDH in der gleichen Küvette vorgenommen, was ein rationelles Arbeiten erlaubte.

Für die quantitative Erfassung des  $\beta$ -Hydroxybutyrats setzten wir ebenfalls in die 2 cm-Küvette 1,0 ml Extrakt, 2,5 ml eines 0,2 M Tris-Puffers  $\text{pH}$  9,5 und 0,05 ml NAD (DPN)-Lösung (100 mg/ml) ein; Vergleichsküvette mit 1,0 ml  $\text{H}_2\text{O}$  bidest., Start der Reaktion mit 0,02 ml HBDH, quantitative Umsetzung in der Regel nach 20–30 min. Der Zusatz eines „Ketonfängers“ erwies sich

Gesamtglycerins einen Leerwert mitzuführen, da Kaliumhydroxyd nicht vernachlässigbare Spuren von Glycerin enthält. Die FFS wurden in  $\mu\text{Val/Liter}$ , die Ketonkörper in  $\mu\text{Mol/g}$  Vollblut und die übrigen Metabolite in  $\text{mg}/100 \text{ ml}$  angegeben.

Für die Beurteilung der Meßergebnisse bei Diabetikern legen wir folgende Normalbereiche (2s) zugrunde, die mit diesen Methoden von BERGMAYER u. BERNT [6], EGGSTEIN [22], WILLIAMSON et al. [52], sowie im eigenen Laboratorium ermittelt wurden; eine kritische Übersicht geben auch ZÖLLNER u. EBERHAGEN [55].

Freie Fettsäuren	180 – 560 – 1060 $\mu\text{Val/Liter}$
Acetacetat	17 – 31 – 76 $\mu\text{Mol/ml}$
$\beta$ -Hydroxybutyrat	55 – 90 – 162 $\mu\text{Mol/ml}$
Triglyceride	74 – 123 – 172 $\text{mg}/100 \text{ ml}$
Cholesterin	125 – 213 – 305 $\text{mg}/100 \text{ ml}$

Die verwendeten Reagentien waren p.a.-Präparate der Firma E. Merck A.G., Darmstadt; die für die enzymatischen Tests benötigten Biochemikalien waren sämtlich Handelspräparate der Fa. C. F. Boehringer & Soehne, Mannheim<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Auch an dieser Stelle sei Herrn Priv. Doz. Dr. H. U. BERGMAYER (Biochem. Abteilung Tutzing der Fa. C. F. Boehringer & Soehne, Mannheim) für praktische Hinweise zur Ketonkörperbestimmung und die Unterstützung unserer Untersuchungen herzlich gedankt.

Entsprechend dem 14-tägigen Intervall für die Bestimmung der untersuchten Parameter lagen nach Abschluß der Untersuchungen für jede der 6 Gruppen jeweils 7 Meßreihen vor, aus denen Mittelwert und Standardabweichung berechnet wurden. Die Signifikanzprüfung erfolgte über den Vergleich zweier Meßreihen, wobei als Nullhypothese angenommen wurde, daß der Mittelwert der Differenzen gleich null ist. Sämtliche statistischen Berechnungen wurden an einer elektronischen Rechenanlage durchgeführt<sup>2</sup>.

auch weiterhin absinkende Tendenz aufweisen, finden wir bei den Buformin-behandelten Gruppen III und IV einen deutlichen Anstieg der FFS-Konzentrationen auf Werte über 800  $\mu\text{Val/L}$ , die sich wegen der starken Streuung allerdings nur in Gruppe III signifikant von dem letzten Wert der Kontrollperiode unterscheiden.

## 2. Ketonkörper (Tabelle 2 und 3)

Während der Kontrollperiode liegen in allen Gruppen die Mittelwerte des Acetacetats im Bereich von

Tabelle 2. *Einfluß der verschiedenen Behandlungsformen auf die Konzentrationen des Acetacetats. Angabe des Mittelwertes in  $m\mu\text{Mol/g} \pm 1 s$*

Gruppe (Anzahl) Medikation	Kontrollperiode (KP)			Behandlungsperiode (BP)			
	0	2	4	6	8	10	12 Wochen
I (n = 10) KP: Keine BP: Placebo	31.8 ± 14.2	33.3 ± 30.5	46.0 ± 35.1 ns	33.8 ± 20.6	29.9 ± 13.2	25.7 ± 5.1	31.3 ± 17.5 ns
II (n = 22) KP: Keine BP: Buformin	48.5 ± 29.9	37.8 ± 23.2	40.6 ± 21.8 ns	32.4 ± 20.3	32.8 ± 10.5	43.5 ± 18.9	42.5 ± 23.2 ns
III (n = 17) KP: Tolbutamid BP: Buformin	37.2 ± 16.0	32.8 ± 16.8	31.9 ± 11.8 ns	34.1 ± 13.4	34.9 ± 13.6	28.2 ± 8.5	40.1 ± 19.9 ns
IV (n = 25) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Buf.	42.8 ± 21.5	41.8 ± 24.3	38.0 ± 22.4 ns	35.4 ± 21.8	38.8 ± 24.1	38.8 ± 21.0	35.3 ± 21.4 ns
V (n = 11) KP: Keine BP: Tolbutamid	39.1 ± 19.6	29.7 ± 11.1	26.7 ± 11.1 ns	24.3 ± 12.7	29.2 ± 16.2	25.6 ± 12.2	23.9 ± 11.6 ns
VI (n = 15) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Plac.	35.2 ± 29.2	32.5 ± 17.7	41.0 ± 29.3 ns	34.3 ± 18.5	26.3 ± 3.6	31.0 ± 12.1	29.7 ± 23.4 ns

## Ergebnisse

### 1 Freie Fettsäuren (Tabelle 1)

Zunächst zeigt sich bei allen Gruppen außer der Placebogruppe I in der Kontrollperiode ein signifikanter Abfall der FFS-Konzentrationen im Serum, so daß nach 5 Wochen rein diätetischer Behandlung im Gruppenmittel überall der obere Normbereich von 700–800  $\mu\text{Val/L}$  erreicht wird. Das hiervon abweichende Verhalten der Placebogruppe erklärt sich wohl hinreichend aus der Tatsache, daß für diese Gruppe nur die leichteren Fälle der in unserem Beobachtungszeitraum frisch entdeckten Diabetiker in Frage kamen. Entsprechend weichen diese Patienten im Mittel bei allen untersuchten Parametern am wenigsten vom Normalbereich ab.

Auf das Einsetzen einer spezifischen antidiabetischen Behandlung reagieren die 6 Gruppen unterschiedlich. Während die Placebogruppe I und die Tolbutamidgruppen V und VI mit den FFS-Werten

30–50  $m\mu\text{Mol/g}$  Blut, der nach den Angaben von WILLIAMSON u. Mitarb. [52] und BERGMAYER u. BERNT [6] dem Normalbereich entspricht. Nach Einsetzen der antidiabetischen Therapie zeigt sich bei den mit Sulfonylharnstoff behandelten Gruppen eine abfallende Tendenz des Acetacetats, so daß gegen Ende der Versuchsperiode sämtliche Mittelwerte unter 30  $m\mu\text{Mol/g}$  liegen. Die Veränderungen sind allerdings statistisch nicht signifikant, und auch die Placebogruppe I weist entsprechend den absinkenden FFS-Konzentrationen abfallende Acetacetatwerte auf. Demgegenüber scheinen die Acetacetatkonzentrationen bei den Buformin-behandelten Gruppen in der Behandlungsperiode leicht anzusteigen, zumindest aber auf einem konstanten Niveau zu bleiben.

Wesentlich ausgeprägter sind die an den  $\beta$ -Hydroxybutyratwerten zu beobachtenden Effekte der verschiedenen Behandlungsformen. Hier fallen zu Beginn der Kontrollperiode weit streuende Konzentrationen bei den 6 Gruppen auf: Die frisch entdeckten Diabetiker und die mit Tolbutamid ungenügend eingestellten Patienten (Gruppe IV) weisen Hydroxybutyratwerte zwischen 140 und 200  $m\mu\text{Mol/g}$  auf, während die mit

<sup>2</sup> Herrn Dr. phil. F. WILLE vom Rechenzentrum der Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen, schulden wir besonderen Dank für die eingehende Beratung und die Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Tolbutamid gut eingestellten Patienten und die Placebogruppe im Mittel deutlich tiefer liegen (100–135  $\mu\text{Mol/g}$ ). Ähnlich wie bei den FFS verschwinden diese Unterschiede weitgehend bis zum Ende der 5-wöchigen Kontrollperiode, d.h. allein durch die diätetische Be-

der Placebogruppe I konstant im Bereich von 100  $\mu\text{Mol/g}$ ; ganz im Gegensatz hierzu steigen die Werte bei den Buformin-behandelten Gruppen II, III und IV an, so daß am Ende der Untersuchung teilweise wieder Werte über 150  $\mu\text{Mol/g}$  erreicht werden; die Erhö-

Tabelle 3. *Einfluß der verschiedenen Behandlungsformen auf die Konzentrationen des  $\beta$ -Hydroxybutyrats. Angabe des Mittelwertes in  $\mu\text{Mol/g} \pm 1 s$*

Gruppe Anzahl() Medikation	Kontrollperiode (KP)			Behandlungsperiode (BP)			
	0	2	4	6	8	10	12 Wochen
I (n = 10) KP: Keine BP: Placebo	135.0 $\pm$ 66.2	129.4 $\pm$ 103.4	158.1 $\pm$ 118.2 ns	110.4 $\pm$ 46.9	104.3 $\pm$ 59.5	87.2 $\pm$ 18.9	100.2 $\pm$ 42.7 p = 0,05
II (n = 22) KP: Keine BP: Buformin	194.1 $\pm$ 146.5	129.3 $\pm$ 74.6	123.0 $\pm$ 51.5 p = 0,05	129.6 $\pm$ 70.8	117.5 $\pm$ 50.2	152.0 $\pm$ 66.3 p = 0,05	133 $\pm$ 70.7 ns
III (n = 17) KP: Tolbutamid BP: Buformin	124.0 $\pm$ 46.4	125.5 $\pm$ 64.7	122.4 $\pm$ 49.6 ns	140.2 $\pm$ 56.9	141.5 $\pm$ 45.0	125.0 $\pm$ 46.6	160.0 $\pm$ 74.3 p = 0.05
IV (n = 25) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Buf.	171.0 $\pm$ 93.4	140.8 $\pm$ 65.7	122.3 $\pm$ 51.6 p = 005	122.1 $\pm$ 42.3	161.5 $\pm$ 99.8	170.0 $\pm$ 74.3 p = 0.01	174.2 $\pm$ 100.9 p = 0.05
V (n = 11) KP: Keine BP: Tolbutamid	141.9 $\pm$ 67.3	124.8 $\pm$ 56.0	99.7 $\pm$ 14.8 p = 0.05	104.3 $\pm$ 49.7	116.3 $\pm$ 45.4	98.5 $\pm$ 41.6	90.4 $\pm$ 38.7 ns
VI (n = 15) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Plac.	124.5 $\pm$ 91.6	94.4 $\pm$ 30.6	123.6 $\pm$ 75.5 ns	92.5 $\pm$ 32.9	104.6 $\pm$ 42.6	107.3 $\pm$ 32.2	93.1 $\pm$ 37.1 ns

Tabelle 4. *Einfluß der verschiedenen Behandlungsformen auf die Konzentrationen der Triglyceride. Angabe des Mittelwertes in  $\text{mg}/100 \text{ ml} \pm 1 s$*

Gruppe (Anzahl) Medikation	Kontrollperiode (KP)			Behandlungsperiode (BP)			
	0	2	4	6	8	10	12 Wochen
I (n = 10) KP: Keine BP: Placebo	188.5 $\pm$ 85.5	185.8 $\pm$ 84.9	193.8 $\pm$ 72.7 ns	167.2 $\pm$ 72.7	192.0 $\pm$ 115.0	215.9 $\pm$ 155.7	218.6 $\pm$ 182.3 ns
II (n = 17) KP: Keine BP: Buformin	198.2 $\pm$ 101.8	212.4 $\pm$ 91.1	190.3 $\pm$ 77.0 ns	186.7 $\pm$ 72.5	198.2 $\pm$ 96.4	190.3 $\pm$ 93.8	207.1 $\pm$ 95.6 ns
III (n = 13) KP: Tolbutamid BP: Buformin	150.1 $\pm$ 64.6	143,4 $\pm$ 41.6	140.7 $\pm$ 59.3 ns	159.3 $\pm$ 47.8	131.8 $\pm$ 45.1	136.3 $\pm$ 67.2	148.7 $\pm$ 52.2
IV (n = 20) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Buf.	200.0 $\pm$ 64.6	224.8 $\pm$ 84.9	202.6 $\pm$ 77.0 ns	202.8 $\pm$ 82.3	196.4 $\pm$ 74.3	192.0 $\pm$ 95.6	182.3 $\pm$ 68.2 ns
V (n = 10) KP: Keine BP: Tolbutamid	230.1 $\pm$ 93.8	226.6 $\pm$ 81.4	211.5 $\pm$ 85.9 ns	203.6 $\pm$ 84.1	196.5 $\pm$ 104.4	189.4 $\pm$ 54.9	202.7 $\pm$ 62.0 ns
VI (n = 15) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Plac.	171.7 $\pm$ 64.6	175.2 $\pm$ 76.1	185.9 $\pm$ 63.7 ns	183.2 $\pm$ 57.5	193.8 $\pm$ 115.1	205.3 $\pm$ 128.3	178.8 $\pm$ 92.9 ns

handlung kommt es bei den vorher unbehandelten Diabetikern zu einer signifikanten Senkung der erhöhten Ketonkörper. In den folgenden acht Wochen der Behandlungsperiode liegen die Hydroxybutyratwerte der Tolbutamid-behandelten Gruppen V und VI sowie

hung ist bei allen 3 Gruppen signifikant, wenn auf den letzten Wert der Kontrollperiode bezogen wird (s. Tabelle 3). Dieser Anstieg des  $\beta$ -Hydroxybutyrats steht im Einklang mit dem Verhalten der FFS unter Buformin (s. Tabelle 1).

### 3. Triglyceride (Tabelle 4)

Beim Vergleich mit den zum Teil erheblichen Änderungen der FFS- und Ketonkörperkonzentrationen fällt bei der Betrachtung der Triglyceridwerte ein relativ starrer Verlauf während der gesamten Untersuchungsdauer auf. Merkwürdigerweise steigen bei der Placebogruppe die Triglyceride im Verlauf der Untersuchung im Mittel leicht an. Die übrigen Gruppen bleiben im wesentlichen in dem für sie charakteristischen Ausgangsbereich. Das einzige Kollektiv, das eine deut-

ändert im Bereich von 240 mg % bleiben, sinken sie bei allen drei Buformin-behandelten Gruppen mit Beginn der Therapie signifikant ab. Dieser Abfall scheint um so deutlicher zu sein, je höher die Ausgangswerte liegen, z. B. bei der mit Tolbutamid ungenügend eingestellten Gruppe IV von 280 auf 236 mg %. Demgegenüber fehlt dieser Effekt bei den Tolbutamid-behandelten Gruppen V und VI völlig; im Gegenteil, bei Neueinstellung mit Tolbutamid (Gruppe V) scheint das Cholesterin im Mittel leicht anzusteigen, verhält

Tabelle 5. *Einfluß der verschiedenen Behandlungsformen auf die Konzentrationen des Cholesterins. Angabe des Mittelwertes in mg/100 ml  $\pm$  1 s*

Gruppe (Anzahl) Medikation	Kontrollperiode (KP)			Behandlungsperiode (BP)			
	0	2	4	6	8	10	12 Wochen
I (n = 10) KP: Keine BP: Placebo	240.4 $\pm$ 51.8	234.4 $\pm$ 37.5	235.7 $\pm$ 36.2 ns	246.6 $\pm$ 58.4	243.3 $\pm$ 54.2	241.6 $\pm$ 55.9	249.1 $\pm$ 60.5 ns
II (n = 23) KP: Keine BP: Buformin	231.2 $\pm$ 34.7	238.0 $\pm$ 42.9	245.3 $\pm$ 53.8 ns	232.9 $\pm$ 46.0	221.4 $\pm$ 46.2	220.7 $\pm$ 47.3 p = 0,05	234.9 $\pm$ 39.3 ns
III (n = 17) KP: Tolbutamid BP: Buformin	251.9 $\pm$ 52.9	242.3 $\pm$ 42.2	251.1 $\pm$ 54.0 ns	235.0 $\pm$ 41.5	234.3 $\pm$ 30.0	224.7 $\pm$ 29.5	210.8 $\pm$ 25.8 p = 0,01
IV (n = 25) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Buf.	269.7 $\pm$ 46.3	254.9 $\pm$ 49.4	279.8 $\pm$ 49.7 ns	259.8 $\pm$ 56.5	249.5 $\pm$ 47.3	247.7 $\pm$ 51.7	236.1 $\pm$ 45.4 p = 0.01
V (n = 11) KP: Keine BP: Tolbutamid	269.4 $\pm$ 58.7	248.5 $\pm$ 66.4	241.5 $\pm$ 54.2 ns	239.8 $\pm$ 38.3	270.2 $\pm$ 56.1	264.4 $\pm$ 65.9	269.2 $\pm$ 55.3 p = 0,05
VI (n = 15) KP: Tolbutamid BP: Tolb. + Plac.	245.0 $\pm$ 36.3	234.2 $\pm$ 30.9	233.3 $\pm$ 28.8 ns	246.7 $\pm$ 28.8	251.6 $\pm$ 61.3	244.2 $\pm$ 47.8	240.6 $\pm$ 38.1 ns

liche, wenn auch statistisch nicht signifikante Änderung während der Behandlung aufweist, ist die Gruppe V. Hier sinkt unter der Neueinstellung mit Tolbutamid der Triglyceridgehalt des Serums von ca. 230 mg % auf Werte um 200 mg % ab. Die Tatsache, daß die mit Tolbutamid zum Teil seit Jahren behandelten Gruppen III und VI Triglyceridwerte um 150 bis 170 mg % aufweisen, spricht für eine Triglycerid-senkende Wirkung des Tolbutamids über einen längeren Zeitraum. Dies mag in gleicher Weise für die Biguanid-Therapie gelten, die nach den Langzeit-Untersuchungen mit Phenformin von SCHWARTZ u. Mitarb. [44] ebenfalls einen Triglycerid-senkenden Effekt besitzen soll. Demgegenüber konnten wir in unserem Beobachtungszeitraum von 8 Wochen keinen sicheren Einfluß der Buformin-Behandlung auf die Serum-Triglyceride feststellen.<sup>1</sup>

### 4. Cholesterin (Tabelle 5)

Während in der Placebogruppe I die Cholesterinwerte in Kontroll- und Behandlungsperiode unver-

<sup>1</sup> Inzwischen haben auch wir bei der Kombinationsgruppe IV nach ca. 100-wöchiger Behandlungsdauer einen statistisch signifikanten Triglyceridabfall beobachtet.

sich also genau umgekehrt wie die Triglyceride bei dieser Gruppe. Aus der Tatsache, daß die mit Tolbutamid vorbehandelten Gruppen IV und VI Cholesterinwerte aufweisen, die im gleichen Bereich wie bei den unbehandelten Diabetikern liegen, läßt sich schließen, daß auch eine Dauerbehandlung mit Tolbutamid keinen Cholesterin-senkenden Effekt hat.

### Diskussion

Seitdem BIERMAN et al. [7] sowie MEHNERT u. Mitarb. [35] im Plasma von Diabetikern erhöhte FFS-Konzentrationen nachgewiesen haben, sind die Veränderungen der FFS-Spiegel Gegenstand zahlreicher Untersuchungen auf dem Sektor der experimentellen und klinischen Diabetesforschung gewesen. Dies scheint berechtigt, da der Stoffwechsel der FFS ähnlich dem der Glucose durch eine Reihe von Hormonen, besonders Insulin und Noradrenalin, kontrolliert wird (Übersicht siehe bei [40, 10]) und daher bei Störungen der hormonalen Regulation mit entsprechenden Veränderungen reagiert. Von RANDLE u. Mitarb. [39] wurde 1963 das Konzept des „glucose fatty-acid cycle“ formuliert, wodurch eine hormonunabhängige Homöostase des Blutzuckers bzw. der FFS gewährleistet werden soll.

Insulin greift in diesen Zyklus nur insoweit ein, als es die Glucoseaufnahme am Fettgewebe (Lipogenese) fördert und die Abgabe von FFS (Lipolyse) hemmt [40], was durch *in vitro*-Versuche von JUNGAS u. BALL [29] bewiesen wurde. Von HALES u. RANDLE [25] wurde als Konsequenz dieser Befunde angenommen, daß beim Altersdiabetiker diese Insulineffekte teilweise aufgehoben sind. CSORBA et al. [17] konnten jedoch kürzlich zeigen, daß zumindest der antilipolytische Effekt des Insulins auch beim Altersdiabetiker vorhanden ist. Dafür würden auch indirekt unsere Ergebnisse sprechen, die ein mit den Insulinspiegeln korrelierendes Verhalten der FFS bei allen Gruppen erkennen lassen.

Es ist demnach verständlich, wenn die FFS-Konzentrationen auch unter dem Einfluß einer antidiabetischen Therapie Veränderungen aufweisen. Diese könnten nicht nur insulinbedingt sein, sondern auch über einen direkten Effekt der Antidiabetica auf die Lipolyse im Fettgewebe zustandekommen, was z. B. von STONE u. Mitarb. [47] *in vitro* für Tolbutamid, nicht dagegen für Phenformin gezeigt werden konnte. Im akuten Versuch mit i. v. Gabe von 2.0 g Tolbutamid gelang es bereits 1957 BIERMAN u. Mitarb. [8], einen der Hypoglykämie parallel verlaufenden Abfall der FFS nachzuweisen. Von CARLSON u. ÖSTMAN [15] sowie MOORHOUSE et al. [36] und BRAUNSTEINER et al. [14] wurde ein gleichartiges Verhalten unter Dauertherapie mit Chlorpropamid bzw. Tolbutamid gefunden.

Bei Beurteilung dieser Arbeiten sollte man den Effekt einer rein diätetischen Kontrolle des Diabetes nicht vernachlässigen. Wir konnten jedenfalls bei allen Gruppen in der Kontrollperiode einen deutlichen Abfall der FFS beobachten; eine weitere signifikante Senkung der FFS durch Tolbutamid ließ sich nicht nachweisen, obwohl einige übergewichtige Patienten diese Tendenz zeigten.

Wesentlich spärlicher und teilweise auch widersprüchlich sind die Mitteilungen über die Wirkung der Biguanide auf die FFS-Plasmaspiegel. Von L'AGE u. Mitarb. [32] wurde ein differentes Verhalten bei Gesunden und Diabetikern gefunden: Erstere reagierten auf Blutzuckerabfall mit einem Anstieg der FFS, der unter Biguanid-Medikation signifikant höher ist; Diabetiker zeigten dagegen unter Biguanid einen geringfügigen FFS-Abfall. Es handelte sich dabei — ähnlich wie in der kürzlich publizierten Arbeit von PETRIDES u. SCHRÄPLER [38] — um einen akuten Versuch über 3 Std mit Gabe von 200 mg Buformin p. o.

Dagegen zeigte sich in unseren Biguanid-behandelten Gruppen unverkennbar ein ansteigender Verlauf der FFS-Mittelwerte im 8-wöchigen Beobachtungszeitraum. Wenn dieser Anstieg auch nicht überall statistisch signifikant ist, messen wir ihm dennoch aufgrund der parallel dazu verlaufenden Ketonkörperpiegel eine Bedeutung bei. Auch würde sich der FFS-Anstieg zwanglos durch die infolge nachweislich abfallender Insulinkonzentrationen [4] vermehrte Lipolyse im Fettgewebe erklären lassen. Ähnliche Ergeb-

nisse wurden bereits von MOORHOUSE u. Mitarb. [36] an 7 Phenformin-behandelten Diabetikern erhalten, bei denen die FFS von rund 1000  $\mu$ Val/Liter auf 1100  $\mu$ Val/L anstiegen. Eine Erhöhung der FFS-Spiegel steht auch in Einklang mit den Befunden von SCHLESS [43], der bei übergewichtigen, Phenformin-behandelten Diabetikern eine Steigerung der FFS-Abgabe am Vorderarm auf 241% der Kontrollperiode bei einer Zuwachsrate der Glucoseaufnahme von +73% fand.

Das differente Verhalten der beiden geprüften Antidiabetica auf die stationären FFS-Konzentrationen spiegelt sich deutlich wieder in der parallelen Bewegung der *Ketonkörperpiegel* im Blut. Es muß allerdings offen bleiben, ob die Veränderungen der Ketonkörper-Konzentrationen nur der Ausdruck des erniedrigten oder erhöhten FFS-Angebotes an die Leber [49, 27, 51, 45, 54] oder noch zusätzlich das Resultat eines spezifischen Effektes auf die Ketogenese sind. Während von BOSHELL et al. [11] eine Hemmung der Ketonkörperbildung durch Tolbutamid *in vitro* und *in vivo* nachgewiesen wurde, fanden CREUTZFELDT et al. [16] in neueren Untersuchungen an der isolierten perfundierten Leber keine Wirkung therapeutischer Carbutamidosen auf die FFS-Aufnahme bzw. die Ketogenese. Mit der gleichen Versuchsanordnung ließ sich auch für therapeutische Biguanid-Konzentrationen kein Effekt auf die genannten Parameter nachweisen [46]. Von LIPPMANN u. TAKAC [33] wurde ebenfalls kein Einfluß von Buformin auf die Ketonkörper des eviscerierten Kaninchens gesehen.

Die nur geringen Änderungen der *Triglyceride* im Serum stehen in deutlichem Gegensatz zu den wesentlich stärkeren Bewegungen der FFS und Ketonkörper. Dies liegt sicher an den unterschiedlichen Umsatzraten und den verschiedenen pool-Größen, die sich um 1 bis 2 Zehnerpotenzen voneinander unterscheiden.

Wir möchten unsere Ergebnisse dahingehend deuten, daß bei einer Dauerbehandlung mit Tolbutamid sicher eine Reduktion der besonders bei übergewichtigen Diabetikern erhöhten Triglyceridwerte im Serum erzielt werden kann. Dies steht im Einklang mit den von CARLSON u. ÖSTMAN [15], KAHAN et al. [30], GERSHBERG et al. [24] sowie FARQUHAR et al. [23] unter Sulfonylharnstoff-Behandlung erhobenen Befunden. Trotz relativ konstanter Blutzuckerwerte von ca. 150 mg% wird aber in keiner unserer Tolbutamid-behandelten Gruppen der Normalbereich der Triglyceride erreicht, was mit den Beobachtungen von BRAUNSTEINER u. Mitarb. [14] übereinstimmt.

Nach experimentellen Untersuchungen dieses Arbeitskreises [42] läßt sich dafür folgende Erklärung geben: Der Einbau von freien Fettsäuren in Plasma-Triglyceride ist bei Blutzuckerspiegeln von 150 bis 200 mg%, d. h. Werten, wie sie für die Diabeteseinstellung als befriedigend angesehen werden, immer noch deutlich beschleunigt gegenüber Blutzuckerspiegeln im Normbereich von ca. 70 bis 110 mg%. Ein dem Blutzucker paralleles Absinken der FFS unter Tolbutamidbehandlung könnte die Einbaurrate durch vermindertes Angebot an die Leber noch zusätzlich drosseln.

Ansteigende FFS-Werte bewirken dagegen eine vermehrte hepatische Triglyceridsynthese mit den Einschränkungen, die von RYAN u. SCHWARTZ [41] sowie JONES u. ARKY [28] hinsichtlich des in Triglyceride eingebauten FFS-Anteils gemacht wurden. Dieser Effekt könnte aber durch die bei abfallenden Blutzuckerspiegeln reduzierte Syntheserate [42] kompensiert werden.

Aufgrund dieser theoretischen Überlegung sollten Biguanide keinen wesentlichen Effekt auf die Plasma-Triglyceride haben, was mit unseren experimentellen Beobachtungen übereinstimmt. Auch KAHAN et al. [30] sowie GERSHBERG et al. [24] fanden keine signifikanten Senkungen von Triglyceriden und Phospholipiden unter Phenformin, während Cholesterin eindeutig reduziert wurde. Im Gegensatz hierzu berichteten SCHWARTZ u. Mitarb. [44] über einen Abfall der Triglyceride bis 50% unter Phenformin-Behandlung, die sich allerdings über einen wesentlich längeren Zeitraum als bei uns erstreckte.

Dagegen fanden auch wir in Übereinstimmung mit zahlreichen Autoren [24, 30, 31, 44] eine deutliche, teilweise hochsignifikante Senkung des Cholesterins im Serum unter der Buformin-Behandlung.

Diese klinischen Befunde stehen in gutem Einklang mit den in Tierexperimenten gewonnenen Ergebnissen, wobei die verwendeten Biguanid-Konzentrationen allerdings bis zum 100-fachen über dem therapeutischen Bereich lagen. DALIDOWICZ u. McDONALD [18] lokalisierten aufgrund ihrer Versuche an Rattenleberhomogenaten den Biguanid-Effekt auf die Stufe der Umwandlung von Farnesyl-Pyrophosphat in Squalen, während Sulfonylharnstoffe bei der Cyklisierung des Squalens angreifen sollen. Bei *in vitro*- und *in vivo*-Versuchen mit Taubenleber fand v. BRAND [12] unter Biguanid-Applikation allerdings mehr eine Hemmung der Synthese der Fettsäuren als der des Cholesterins. In eigenen, bisher unveröffentlichten Versuchen mit Rattenleberschnitten wurde der Einbau von <sup>14</sup>C-Acetat in das Cholesterin bei einer Buformin-Konzentration von 5  $\gamma$ /ml im Inkubationsmedium bereits deutlich gehemmt, während sich in der Phosphatid- und Triglyceridfraktion noch kein Effekt zeigte.

Bei den Tolbutamid-behandelten Gruppen V und VI konnten wir dagegen keine Senkungen des Cholesterins beobachten; dem in der Behandlungsperiode von Gruppe V auftretenden, mit  $p = 0,05$  statistisch signifikanten Anstieg des Cholesterins möchten wir aufgrund der geringen Kollektivgröße keine wesentliche Bedeutung beimessen. Auch BRAUNSTEINER et al. [14] fanden die Cholesterinwerte ihrer mit Insulin bzw. Tolbutamid behandelten Diabetiker im Vergleich zum Normalkollektiv erhöht; im Gegensatz hierzu wurde von WEISSEL [50] über eine Senkung des Cholesterins bei latentem Diabetes durch niedrig dosierte Tolbutamid-Behandlung berichtet. Bei Beurteilung dieses speziellen Aspektes sollte man aber berücksichtigen, daß das Cholesterin beim Altersdiabetes im Vergleich mit einer gleichaltrigen Gruppe stoffwechselgesunder Personen nicht sicher erhöht ist [1, 20].

Insgesamt möchten wir aus den vorliegenden Untersuchungsergebnissen schließen, daß die beiden geprüften peroralen Antidiabetica sich bei gleich guten

Blutzucker-senkenden Eigenschaften unterschiedlich verhalten hinsichtlich ihrer Effekte auf die beim Altersdiabetes teilweise erhöhten Serumlipide und Ketonkörper. Langfristige Untersuchungen müssen zeigen, ob diese unterschiedlichen Effekte ausreichen, um die Entwicklung der arteriosklerotischen Spätkomplikationen zu beeinflussen.

Frl. R. WÖRNER sind wir für die gewissenhafte und zuverlässige Durchführung einer großen Zahl von Lipidanalysen zu besonderem Dank verpflichtet.

#### Literatur

- ADLERSBERG, D., and L. EISLER: Circulating lipids in diabetes mellitus. *J. amer. med. Ass.* **170**, 1261—1265 (1959).
- ALBRINK, M.J., J.W. MEIGS, and E.B. MAN: Serum lipids, hypertension and coronary artery disease. *Amer. J. Med.* **31**, 4—23 (1961).
- , and E.B. MAN: Serum triglycerides in health and diabetes. *Diabetes* **7**, 194—199 (1958).
- APPELS, A., R. KATTERMANN, H. PROSCEK, K. HUBRICH, H. FRERICH, H.D. SÖLING u. W. CREUTZFELDT: Untersuchungen über die Wirkung von Diät, Tolbutamid und Buformin sowie deren Kombination auf Körpergewicht und verschiedene Stoffwechselgrößen bei Diabetikern: I. Körpergewicht, Kohlenhydratstoffwechsel und immunologisch reagierendes Insulin. *Diabetologia* **4**, 210—220 (1968).
- BAGDADE, J.D., D. PORTE, and E.L. BIERMAN: Diabetic lipemia. A form of acquired fat-induced lipemia. *New Engl. J. Med.* **276**, 427—433 (1967).
- BERGMAYER, H.U., u. E. BERNT: Enzymatische Bestimmung von Ketonkörpern im Blut. *Enzymol. biol. clin.* **5**, 65—76 (1965).
- BIERMAN, E.L., V.P. DOLE, and T.N. ROBERTS: An abnormality of non-esterified fatty acid metabolism in diabetes mellitus. *Diabetes* **6**, 475—479 (1957).
- T.N. ROBERTS, and V.P. DOLE: Effect of tolbutamide (orinase) on plasma non-esterified fatty acids. *Proc. Soc. exp. Biol.* **95**, 437—439 (1957).
- J.A.P. AMARAL, and B.H. BELKNAP: Hyperlipemia and diabetes mellitus. *Diabetes* **15**, 675—1679 (1966).
- BÖHLE, E., H. DITSCHUNEIT, F. MELANI, J. BEYER, K. SCHÖFFLING u. E.F. PFEIFFER: Über die Regulation der unveresterten Fettsäuren. *Dtsch. med. Wschr.* **91**, 1083—1090 (1966).
- BOSHELL, B.R., G.R. ZAHND, and A.E. RENOLD: An effect of tolbutamide on ketogenesis in vivo and in vitro. *Metabolism* **9**, 21—29 (1960).
- v. BRAND, V.: Die Wirkung von Phenyläthylbiguanid auf den Fettstoffwechsel der Leber. *Arzneimittel-Forsch.* **11**, 739—742 (1961).
- BRAUNSTEINER, H., R. DIPPAULI, S. SAILER u. F. SANDHOFER: Myokardinfarkt und latent diabetische Stoffwechsellage. *Klin. Wschr.* **43**, 585—587 (1965).
- S. SAILER u. F. SANDHOFER: Plasmalipide bei Patienten mit Diabetes mellitus. *Klin. Wschr.* **44**, 116—119 (1966).
- CARLSON, L.A., and J. ÖSTMAN: Effect of chlorpropamide treatment on serum lipid levels in diabetes mellitus. *Acta med. scand* **170**, 561—564 (1961).
- CREUTZFELDT, W., E. Skutella, D. MOSHAGVN, P. KNEER u. H.D. SÖLING: Die Wirkung von N<sub>1</sub>-Sulfanyl-N<sub>2</sub>-butylcarbamid (Carbutamid) auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber von normalen und alloxandiabetischen ketotischen Ratten. *Diabetologia* **3**, 9—19 (1967).
- CSORBA, T.R., J. MATSUDA, and N. KALANT: Effects of insulin and diabetes on flux rates of plasma glucose and free fatty acids. *Metabolism* **15**, 262—270 (1966).

18. DALIDOWICZ, J.E., and H.J. McDONALD: Site of the inhibition of cholesterol biosynthesis by tolbutamide and phenethyl-biguanide. *Biochemistry* **4**, 1138—1143 (1965).
19. DOLE, V.P., and H. MEINERTZ: Microdetermination of long chain fatty acids in plasma and tissues. *J. biol. Chem.* **235**, 2595—2599 (1960).
20. EGGSTEIN, M.: Diabetes und Fett. *Med. Welt* **14**, 843—851 (1967).
21. —, u. F.H. KREUTZ: Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe. I. Mitteilung. *Klin. Wschr.* **44**, 262—267 (1966).
22. — Eine neue Bestimmung der Neutralfette in Blutserum und Gewebe. II. Mitteilung. *Klin. Wschr.* **44**, 267—273 (1966).
23. FARQUHAR, J.W., A. FRANK, R.C. GROSS, and G.M. REAVEN: Glucose, insulin and triglyceride responses to high and low carbohydrate diets in man. *J. clin. Invest.* **45**, 1648—1656 (1956).
24. GERSHBERG, H., M. HULSE, Z.C. JAVIER, A. HECHT, and S. MARI: Blood lipids of maturity-onset diabetes treated with phenformin and tolbutamide. *Diabetes* **14**, 456. (1965).
25. HALES, C.N., and P.J. RANDLE: Effects of low carbohydrate diet and diabetes mellitus on plasma concentrations of glucose, Nefa and insulin during oral glucose tolerance tests. *Lancet* 1963 I 790—794.
26. HAMWI, G.J., O. GARCIA, F.A. KRUGER, G. GWINUP, and D.G. CORNWELL: Hyperlipidemia in uncontrolled diabetes. *Metabolism* **11**, 850—862 (1962).
27. HANSON, P.G., R.E. JOHNSON, and D.S. ZAHARKO: Correlation between ketone body and free fatty acid concentrations in the plasma during early starvation in man. *Metabolism* **14**, 1037—1040 (1965).
28. JONES, D.P., and R.A. ARKY: Effects of insulin in triglyceride and free fatty acid metabolism in man. *Metabolism* **14**, 1287—1293 (1965).
29. JUNGAS, R.L., and E.G. BALL: Studies on the metabolism of adipose tissue. The effects of insulin and epinephrine on free fatty acid and glycerol production in the presence and absence of glucose. *Biochemistry* **2**, 383—388 (1963).
30. KAHAN, M., J. HIRSLEIFER, and E.E. MANDEL: Serum lipids in diabetes mellitus: A comparison of the effects of tolbutamide, phenformin hydrochloride and NPH-insulin. *Diabetes* **15**, 536—537 (1966).
31. KOPP, H.: Ergebnisse der Diabetestherapie mit Silubin retard. *Med. Klin* **62**, 878—882 (1967).
32. L'AGE, M., J. STEHR u. P. WAHL: Der Einfluß von N<sub>1</sub>-n-Butylbiguanid auf das Verhalten der unveresterten Fettsäuren bei Normalpersonen und bei Diabetikern und am epididymalen Fettgewebe der Ratte. *Klin. Wschr.* **41**, 659—662 (1963).
33. LIPPMANN, H.G., u. A. TABAC: Untersuchungen zur Wirkung von N<sub>1</sub>-n-Butylbiguanid auf die Blutketonkörper beim eviscerierten, nephrektomierten Kaninchen mit experimenteller Ketose. *Dtsch. Z. Verdau.- u. Stoffwechsel* **26**, 197—201 (1966).
34. MATSUDA, J., and N. KALANT: Effect of alloxan diabetes on cholesterol flux into aorta. *Diabetes* **15**, 604—608 (1966).
35. MEHNERT, H., L. PELIKAN u. N. ZÖLLNER: Über die Konzentration der freien Fettsäuren im Serum von Diabetikern und Fettsüchtigen. *Klin. Wschr.* **39**, 888—891 (1961).
36. MOORHOUSE, J.A., J. STEINBERG, and N.J. ROSEN: Sex difference in serum free fatty acid levels in diabetic subjects. *J. clin. Endocrinol.* **23**, 1080—1089 (1963).
37. PEARSON, J., S. STERN, and Th. MCGAVACK: A rapid accurate method for determination of total serum cholesterol. *Anal. Chem.* **25**, 813—814 (1953).
38. PETRIDES, P., u. P. SCHRÄPLER: Experimentelle Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Buformin. *Klin. Wschr.* **44**, 1209—1212 (1966).
39. RANDLE, P.J., C.N. HALES, P.B. GARLAND, and E.A. NEWSHOLME: The glucose fatty acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963 I, 785—789.
40. RENOLD, A.E., O.B. CROFFORD, W. STAUFFACHER, and B. JEANRENAUD: Hormonal control of adipose tissue metabolism, with special reference to the effects of insulin. *Diabetologia* **1**, 4—12 (1965).
41. RYAN, W.G., and T.B. SCHWARTZ: Dynamics of plasma triglyceride turnover in man. *Metabolism* **14**, 1243—1254 (1965).
42. SAILER, S., F. SANDHOFER u. H. BRAUNSTEINER: Beziehungen zwischen Blutzuckerspiegel, Umsatzrate der freien Fettsäuren und Fettsäureeinbau in Plasma-triglyceride bei Diabetikern. *Klin. Wschr.* **45**, 86—91 (1967).
43. SCHLESS, G.L.: Nonesterified fatty acids as a metabolic substrate: The rapid turnover theory. *Metabolism* **13**, 934—941 (1964).
44. SCHWARTZ, M.J., S. MIRSKY, and L.E. SCHAEFFER: The effect of phenformin hydrochloride on serum cholesterol and triglyceride levels of the stable adult diabetic. *Metabolism* **15**, 808—822 (1966).
45. SÖLING, H.D., R. KATTERMANN, H. SCHMIDT, and P. KNEER: The redox state of NAD/NADH systems in rat liver during ketosis and the so-called triose phosphate block. *Biochim. biophys. Acta* **115**, 1—14 (1966).
46. — D. MOSHAGEN, E. SKUTELLA, P. KNEER und W. CREUTZFELDT: Die Wirkung von N<sub>1</sub>-n-butylbiguanid auf den Stoffwechsel der isolierten perfundierten Leber normaler und alloxandiabetischer ketotischer Ratten. *Diabetologia* **3**, 318—330 (1967).
47. STONE, D.B., J.D. BROWN, and C.P. COX: Effect of tolbutamide and phenformin on lipolysis in adipose tissue in vitro. *Amer. J. Physiol.* **210**, 26—30 (1966).
48. WADDELL, W.R., and R.A. FIELD: Carbohydrate metabolism in atherosclerosis. *Metabolism* **9**, 800—806 (1960).
49. WAKIL, S. J., and R. BRESSLER: Fatty acid metabolism and ketone body formation. *Metabolism* **11**, 742—761 (1962).
50. WEISSEL, W.: Glucosetoleranz und Tolbutamid-Wirkung bei erhöhtem Serum-Cholesterin. *Wien. Z. inn. Med.* **45**, 190—196 (1964).
51. WIELAND, O., u. G. LÖFFLER: Über den Mechanismus der gesteigerten Ketonkörperbildung. *Biochem. Z.* **339**, 204—211 (1963).
52. WILLIAMSON, D.H., J. MELLANBY, and H.A. KREBS: Enzymic determination of D(-)-β-Hydroxybutyric acid and acetoacetic acid in blood. *Biochem. J.* **82**, 90—96 (1962).
53. WILSON, R.B., J.M. MARTIN, and W.S. HARTROFT: Evaluation of the relative pathogenic roles of diabetes and serum cholesterol levels in the development of cardio-vascular lesions in rats. *Diabetes* **16**, 71—82 (1967).
54. ZIMMER, G., F.A. GRIES u. K. JAHNKE: Das Verhalten von Metaboliten des Fettstoffwechsels im Serum adipöser und nichtadipöser Personen bei oraler Kohlenhydratzufuhr und kurzfristiger Nahrungskarenz. *Klin. Wschr.* **42**, 1020—1024 (1964).
55. ZÖLLNER, N., u. D. EBERHAGEN: Untersuchungen und Bestimmungen der Lipoide im Blut, 1. Aufl., p. 393. Berlin-Heidelberg: Springer 1965.

Priv. Doz. Dr. R. KATTERMANN  
 Medizinische Universitätsklinik  
 3400 Göttingen  
 Humboldtallee 1