

## Untersuchungen zum antilipolytischen Effekt des Insulins am menschlichen Fettgewebe *in vitro*

F. A. GRIES, M. BERGER und K. OBERDISSE

2. Medizinische Klinik und Poliklinik und Diabetes-Forschungsinstitut an der Universität Düsseldorf (Direktor: Prof. Dr. K. OBERDISSE)

Eingegangen am 5. Januar 1968

*Investigations of the antilipolytic effect of insulin on human adipose tissue in vitro*

**Summary.** The antilipolytic effect of insulin on human adipose tissue was studied employing glucose-free incubation medium. The lipolytic activity was measured by the production of glycerol and free fatty acids, and calculated per g wet weight of tissue. Slices of adipose tissue, which was obtained after an overnight fast from 25 subjects selected for lack of metabolic or endocrine diseases, released  $0.57 \pm 0.20$   $\mu$ moles glycerol/g tissue/2 h, and  $2.6 \pm 0.8$   $\mu$ eq. free fatty acids/g tissue/2 h. — Lipolysis was increased by addition of 0.01 or more  $\mu$ g epinephrine or norepinephrine per ml of medium, the increment produced by 0.1 or 1.0  $\mu$ g catecholamine/ml being about 100% of the basal rate. However, the effect of norepinephrine was significantly greater than the effect of epinephrine. — Addition of insulin to the medium inhibited lipolysis. 33  $\mu$ U of insulin per ml decreased the release of glycerol to  $66 \pm 21\%$  and the release of free fatty acids to  $67 \pm 24\%$  of the basal rate. A reduction of lipolysis by about 1/3 was also seen when lipolysis was stimulated by 0.1 or 1.0  $\mu$ g catecholamine per ml. — The dose response of the insulin effect on stimulated lipolysis was studied in slices of adipose tissue from 14 normal subjects. A significant inhibition of lipolysis was demonstrated with 1.0  $\mu$ U of insulin per ml. The lipolytic effect of 0.1 or 1.0  $\mu$ g catecholamine per ml was completely inhibited by 100  $\mu$ U insulin per ml. — The marked insulin sensitivity of lipolysis in human adipose tissue *in vitro* would be in agreement with the concept, that mobilization of depot fat under physiological conditions *in vivo* is regulated by insulin, independent of glucose metabolism.

*Etude de l'effet antilipolytique de l'insuline sur le tissu adipeux humain in vitro*

**Résumé.** Les auteurs ont étudié l'effet antilipolytique de l'insuline sur le tissu adipeux humain en utilisant un milieu d'incubation ne contenant pas de glucose. L'activité lipolytique a été mesurée d'après la production de glycérol et d'acides gras libres, et calculée par g de poids humide de tissu. Des coupes de tissu adipeux obtenu à partir de 25 sujets à jeun depuis la veille au soir et n'ayant pas de maladies métaboliques ou endocriniennes, libéraient  $0.57 \pm 0.20$   $\mu$ mol de glycérol/g de tissu en 2 h, et  $2.6 \pm 0.8$   $\mu$ Eq d'acides gras libres/g de tissu en 2 h. La lipolyse était augmentée par addition de 0.01  $\mu$ g ou plus d'adrénaline ou de noradrénaline par ml, l'augmentation produite par 0.1 ou 1.0  $\mu$ g de catécholamine/ml étant environ de 100% par rapport au taux de base. Cependant, l'effet de la noradrénaline était significativement plus grand que celui de l'adrénaline. L'addition d'insuline au milieu inhibait la lipolyse. 33  $\mu$ U d'insuline par ml réduisaient la libération de glycérol à  $66 \pm 21\%$  et la libération d'acides gras libres à  $67 \pm 24\%$  du taux de base. Une réduction

de la lipolyse d'environ 1/3 a été également observée quand la lipolyse était stimulée par 0.1 ou 1.0  $\mu$ g de catécholamine par ml. La relation effet-dose de l'insuline sur la lipolyse stimulée a été étudiée sur des coupes de tissu adipeux de 14 sujets normaux. Une inhibition significative de la lipolyse a été constatée avec 1.0  $\mu$ U d'insuline par ml. L'effet lipolytique de 0.1 ou 1.0  $\mu$ g de catécholamine par ml était complètement inhibé par 100  $\mu$ U d'insuline par ml. La sensibilité marquée de la lipolyse à l'insuline dans le tissu adipeux humain *in vitro* serait en accord avec l'idée que la mobilisation des graisses en dépôt dans les conditions physiologiques *in vivo* est régulée par l'insuline indépendamment du métabolisme du glucose.

**Zusammenfassung.** Am menschlichen Fettgewebe *in vitro* wurde die Hemmung der Lipolyse durch Insulin in glucosefreiem Medium untersucht. Als Parameter der lipolytischen Aktivität wurde die Produktion von Glycerin und freien Fettsäuren bezogen auf Gewebe-Feuchtgewicht gemessen. Die Metabolitfreisetzung durch Fettgewebsschnitte von 25 Normalpersonen betrug in glucosefreiem Medium unter basalen Bedingungen  $0.57 \pm 0.20$   $\mu$ Mol Glycerin/g Gewebe-Feuchtgewicht/2 Std und  $2.6 \pm 0.8$   $\mu$ Eq freie Fettsäuren/g Gewebe-Feuchtgewicht/2 Std. — Die Lipolyse wurde durch Zusatz von Noradrenalin oder Adrenalin in Konzentrationen von 0.01  $\mu$ g/ml oder mehr stimuliert. Bei Konzentrationen von 0.1 und 1.0  $\mu$ g Katecholamin/ml ergaben sich submaximale Steigerungen der Metabolitfreisetzung auf rund das Doppelte des Basalwertes. Die mit beiden Hormonkonzentrationen erzielten Effekte waren nicht signifikant unterschiedlich, jedoch bei Noradrenalin signifikant größer als bei Adrenalin. — Zusatz von Insulin zum Inkubationsmedium hemmte die Lipolyse. Durch 33  $\mu$ E Insulin/ml wurde bei Fettgewebsschnitten von 18 Normalpersonen die basale Produktion von Glycerin auf  $66 \pm 21\%$  und von freien Fettsäuren auf  $67 \pm 24\%$  reduziert. Auch bei gleichzeitiger submaximaler Stimulation durch Katecholamine betrug die Hemmung der Lipolyse rund 1/3. — Die Konzentrationsabhängigkeit des Insulineffekts auf die Katecholamin-stimulierte Lipolyse wurde an Fettgewebsschnitten von 14 Normalpersonen geprüft. Eine signifikante Lipolysehemmung wurde mit einer Konzentration von 1.0  $\mu$ E Insulin/ml im Inkubationsmedium erzielt. Durch 100  $\mu$ E/ml wurde die durch Katecholaminzusatz bedingte Stimulation der Lipolyse aufgehoben. — Die *in vitro* nachweisbare hohe Insulinempfindlichkeit der Lipolyse des menschlichen Fettgewebes läßt darauf schließen, daß die Fettmobilisation auch unter physiologischen Bedingungen *in vivo* unabhängig vom Glucosestoffwechsel durch Insulin reguliert wird.

**Key-words:** Human adipose tissue, insulin, antilipolytic effect, lipolysis, catecholamines.

Der Triglyceridstoffwechsel des Fettgewebes ist durch zwei in der Regel gleichzeitig nebeneinander ablaufende Prozesse gekennzeichnet: Die Lipolyse, d.h. die Spaltung der Triglyceride (TG) in freie Fettsäuren (FFS) und Glycerin (GLYC) und die Rückveresterung der gebildeten FFS zu Glyceridestern (VAUGHAN u. STEINBERG, 1965). Die Freisetzung von GLYC wird demnach durch das Ausmaß der Lipolyse, die Freisetzung der FFS jedoch durch die Bilanz von Lipolyse und Rückveresterung bestimmt. Die Lipasen des Fettgewebes werden *in vivo* und *in vitro* durch verschiedene hormonale und pharmakologische Wirkstoffe aktiviert (BRECH u. GORDON, 1967). Auch eine Hemmung ist möglich (CARLSON u. BALLY, 1965; ROBBELL u. JONES, 1966; FAIN u. Mitarb., 1966). Unter den antilipolytisch wirksamen Substanzen sind die Prostaglandine (STEINBERG u. Mitarb., 1964; BERGSTRÖM u. CARLSON, 1965; STOCK u. Mitarb., 1965), das Insulin (JUNGAS u. BALL, 1963; FROESCH u. Mitarb., 1965; FAIN u. Mitarb., 1966a; HEPP u. Mitarb., 1967) und die nicht hemmbare insulinähnliche Aktivität des Serums (MUELLER u. Mitarb., 1965; HEPP u. Mitarb., 1967) als körpereigene Wirkstoffe von besonderer physiologischer Bedeutung.

Die Vorstellungen zur Regulation des Fettgewebstoffwechsels gründen sich im wesentlichen auf Tierversuche. *In vitro*-Untersuchungen am menschlichen Fettgewebe liegen nur vereinzelt vor (GRIES u. STEINKE, 1967a). Die Hormonempfindlichkeit, besonders gegenüber Insulin, war in diesen Versuchen wesentlich geringer als die des Fettgewebes der Ratte. Erst in letzter Zeit ist es gelungen, mit physiologischen Insulinkonzentrationen Effekte auf den Glucosestoffwechsel des Fettgewebes zu demonstrieren (GRIES u. STEINKE, 1967b; GOLDRICK, 1967). Im folgenden wird über Versuche berichtet, in denen der antilipolytische Insulineffekt am menschlichen Fettgewebe *in vitro* untersucht wird.

#### Material und Methoden

Fettgewebe wurde von 26 normgewichtigen Patienten ( $\pm 10\%$  nach Broca) im Alter von 26–72 Jahren zu Beginn eines chirurgischen Eingriffs aus der Subcutis des Bauches entnommen. Es handelte sich um Hernien, Cholezystopathien und benigne sowie vereinzelt auch maligne Magen-Darm-Erkrankungen. Letztere wurden in die Untersuchungen zur Konzentrationsabhängigkeit des Insulineffektes nicht aufgenommen. Diabetes oder Endokrinopathien sowie akute Entzündungen waren in allen Fällen ausgeschlossen. Die Patienten waren mindestens 12 Std nüchtern. Die Narkose wurde in üblicher Weise eingeleitet und unter Verwendung von Succinyl mit Halothan oder Lachgas durchgeführt.

Der Transport des Fettgewebes ins Laboratorium erfolgte in albuminfreiem Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer (KRB-Puffer) bei 37°C. Das Fettgewebe wurde möglichst atraumatisch zu bindegewebsarmen Stück-

chen mit einem Durchmesser von rund 2 mm präpariert. Alle Inkubationen erfolgten in KRB-Puffer mit 4 g% Albumin bei 37°C im Warburg-Apparat bei einer Schüttelfrequenz von 76/Min. Während der einstündigen Vorinkubation enthielt das Medium 5.55 mM Glucose. Nach der Vorinkubation wurden die Fettgewebstückchen in glucosefreiem Inkubationsmedium gründlich abgespült, von Medium befreit und jeweils ca 300 mg ausgewogenen Gewebes in 3 ml frisches glucosefreies Inkubationsmedium übergeführt. Alle Hormonzusätze erfolgten unmittelbar vor der Hauptinkubation und vor Zugabe des Gewebes. Der Effekt der Hormonzusätze wurde durch Vergleich mit Parallelansätzen des gleichen Gewebes ohne Hormonzusatz ermittelt. Alle Inkubationen erfolgten in Doppelsätzen, deren Mittelwert verwertet wurde. Die Dauer der Hauptinkubation betrug 2 Std. Bei Versuchsende wurde GLYC im Medium enzymatisch nach KREUTZ (1962) bestimmt. Aufgrund eigener Messungen enthält das Gewebe bei Versuchsende 4–5% des gebildeten GLYC, die unberücksichtigt blieben. Das restliche Inkubationsmedium und das Fettgewebe wurden bei +4°C über Nacht nach DOLE (1956) extrahiert, und im Extrakt die FFS nach DOLE und MEINERTZ (1960), modifiziert nach LOCHNER u. NASSERI (1960) bestimmt. Alle Analysen stützen sich auf Mehrfachbestimmungen.

Als Albumin wurde kristallines Human-Albumin „reinst“, Behring-Werke, Marburg/Lahn, verwandt. Adrenalin und Noradrenalin (Hoechst) waren Handelspräparate, das Insulin war ein hochgereinigtes Präparat aus Rinder-Pankreas (Hoechst OP-257 BO 12).

Statistische Berechnungen erfolgten nach STUDENTS *t*-Test. Es werden Mittelwerte und Standardabweichungen angegeben. Bei der Analyse der Konzentrationsabhängigkeit des antilipolytischen Insulineffektes wurde die Signifikanz der Mittelwertsdifferenzen getestet.

#### Ergebnisse

Aus vorausgegangenen Untersuchungen (PREISS u. Mitarb., 1968) ist bekannt, daß unter den gewählten Bedingungen die Rate der basalen und der katecholamin-stimulierten Lipolyse der eingesetzten Gewebsmenge proportional und bis zu 3 Std konstant ist. Unter Basalbedingungen ( $n = 25$ ) betrug die GLYC-Abgabe des Fettgewebes in das Medium 0.27 bis 1.02  $\mu\text{Mol/g}$  Feuchtgewicht/2h, im Mittel  $0.57 \pm 0.20$   $\mu\text{Mol/g}$  Feuchtgewicht/2h und die FFS-Produktion 1.6 bis 4.6  $\mu\text{Eq/g}$  Feuchtgewicht/2h, im Mittel  $2.6 \pm 0.8$   $\mu\text{Eq/g}$  Feuchtgewicht/2h.

Die Lipolyse wurde durch Zusatz von Adrenalin oder Noradrenalin gesteigert. Der lipolytische Effekt war abhängig von der Hormonkonzentration im Medium (Abb. 1), jedoch bei Konzentrationen von 1.0  $\mu\text{g/ml}$  nur wenig stärker als bei 0.1  $\mu\text{g/ml}$ ; der Unterschied war nicht signifikant (Tabelle 1). Noradrenalin stimulierte bei Konzentrationen von 1.0  $\mu\text{g/ml}$  die

Glycerinfreisetzung signifikant stärker als Adrenalin gleicher Konzentration ( $p < 0.001$ ), die Wirkung auf die FFS-Produktion war nicht signifikant unterschiedlich.

Bei Zusatz von 33  $\mu\text{E}$  Insulin/ml zum Medium kam es in allen untersuchten Proben zur Hemmung der GLYC- und FFS-Produktion. Sie betrug bei GLYC

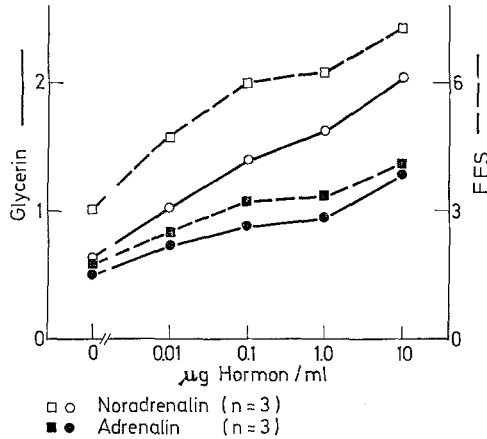


Abb. 1. Effekt von Adrenalin und Noradrenalin auf die Produktion von freien Fettsäuren (FFS) und Glycerin (GLYC) in Abhängigkeit von der Hormonkonzentration. Mittelwert von je 3 Versuchen

Tabelle 1. Vergleich der Lipolysesteigerung durch Adrenalin und Noradrenalin. Die Metabolitproduktion ist in Prozent der Basalwerte angegeben (MW  $\pm$  SD). Die Stimulation der Glycerin-Produktion durch 1  $\mu\text{g}$  Noradrenalin/ml ist signifikant größer als durch 1  $\mu\text{g}$  Adrenalin/ml ( $p < 0.001$ )

Inkubationsmedium		Metabolitproduktion			
		Glycerin		FFS	
		n	% Stimulation	n	% Stimulation
Noradrenalin	0.1 $\mu\text{g/ml}$	9	225 $\pm$ 43	9	179 $\pm$ 49
	1 $\mu\text{g/ml}$	7	247 $\pm$ 23	7	182 $\pm$ 43
Adrenalin	0.1 $\mu\text{g/ml}$	8	189 $\pm$ 36	8	171 $\pm$ 29
	1 $\mu\text{g/ml}$	6	189 $\pm$ 15	5	175 $\pm$ 44

66  $\pm$  21% bei FFS 67  $\pm$  24% des Basalwertes (Abb. 2). Insulin hemmte die Lipolyse auch nach Zusatz von Katecholaminen in submaximal wirksamen Konzentrationen. Die Metabolitproduktion, ausgedrückt in Prozent der ohne Insulinzusatz gemessenen Werte, wurde durch Insulin unter Basalbedingungen und in Gegenwart von Katecholaminen etwa gleich stark reduziert, der Insulineffekt war jedoch bei gleichzeitiger Stimulation besser reproduzierbar (Abb. 2).

Die Dosis-Abhängigkeit des antilipolytischen Effektes von Insulin auf die submaximal stimulierte Lipolyse wurde in weiteren Versuchen geprüft. Die Stimulation erfolgte mit 0.1  $\mu\text{g/ml}$  oder 1.0  $\mu\text{g/ml}$  Noradrenalin bzw. Adrenalin. Da der lipolytische Effekt beider Hormonkonzentrationen gleichartig war, werden die

Versuche gemeinsam demonstriert. Die Insulinkonzentration des Mediums wurde zwischen 0.1  $\mu\text{E/ml}$  und 100  $\mu\text{E/ml}$  variiert. Schon mit der niedrigsten Insulinkonzentration ließ sich in mehr als der Hälfte der Versuche eine Verminderung der GLYC- und der FFS-Produktion erkennen. Steigerung des Insulingehaltes im Medium führte zu einer zunehmenden und signi-

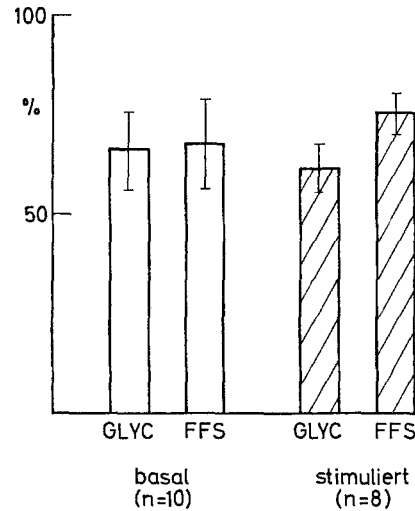


Abb. 2. Effekt von 33  $\mu\text{E}$  Insulin/ml auf die basale und die hormonstimulierte Lipolyse. Die Produktion von freien Fettsäuren (FFS) und Glycerin (GLYC) ist in Prozent der Kontrollen ohne Insulin angegeben (MW  $\pm$  SD). Basal: Lipolyse im Puffer ( $n = 10$ ). Stimuliert: Mittelwert von je 2 Versuchen mit 0.1  $\mu\text{g}$  oder 1.0  $\mu\text{g/ml}$  Adrenalin bzw. Noradrenalin ( $n = 8$ )

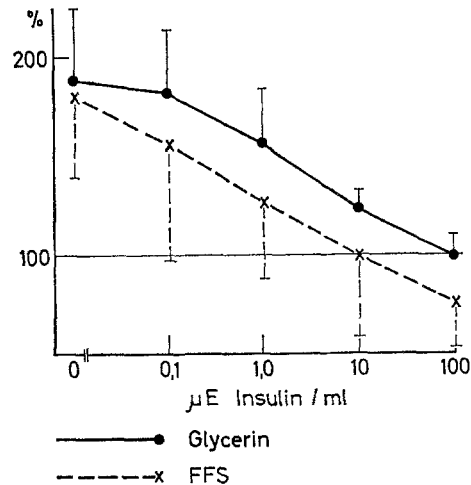


Abb. 3. Antilipolytischer Effekt des Insulins bei submaximaler Stimulation mit Adrenalin. Die Produktion von Glycerin und freien Fettsäuren ist in Prozent der Basalwerte angegeben (MW  $\pm$  SD,  $n = 6$ )

fikanten Hemmung der Lipolyse (Abb. 3 u. 4). Dieser Effekt war auch beim Vergleich der Wirkungen der einzelnen Insulinkonzentrationen untereinander signifikant. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung sind in Tab. 2 zusammengestellt. Die antilipolytische Wirkung des Insulins war in den Versuchen mit Nor-

adrenalin und Adrenalin ähnlich (Abb. 3 u. 4). Bei Insulinkonzentrationen von 100  $\mu$ E/ml wurde der lipolytische Effekt beider Katecholamine aufgehoben. Unterschiede der antilipolytischen Wirksamkeit des Insulins zwischen den Versuchen mit 0.1  $\mu$ g/ml und 1.0  $\mu$ g/ml Katecholamin waren nicht erkennbar.

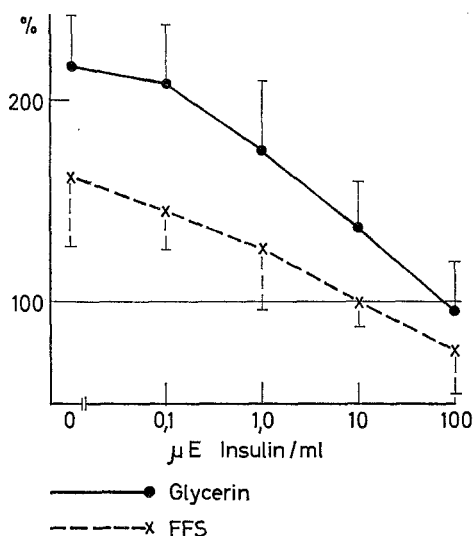


Abb. 4. Antilipolytischer Effekt des Insulins bei submaximaler Stimulation mit Noradrenalin. Die Produktion von Glycerin und freien Fettsäuren ist in Prozent der Basalwerte angegeben (MW  $\pm$  SD, n = 8)

u. SHANK, 1966) unter Basalbedingungen und bei stimulierter Lipolyse bestätigt. Diese Wirkung des Insulins ist wahrscheinlich unabhängig vom Glucosestoffwechsel. Sie ist im glucosefreien Medium nachweisbar und betrifft nicht nur die Freisetzung der FFS, sondern auch die des GLYC, dessen Bildung, wie einleitend erläutert wurde, direkt von der Aktivität der Lipasen abhängen soll. Da die Aktivität der Fettgewebslipasen vom intracellulären Spiegel des 3',5' cyclo-AMP reguliert wird (RIZACK, 1964; BUTCHER u. Mitarb., 1965), könnte der Insulineffekt durch die Senkung der intracellulären Konzentration dieses Wirkstoffes erklärt werden (BUTCHER u. Mitarb., 1966). JUNGAS (1966) vermutet eine Hemmung der Cyclo-AMP-Synthese. In Übereinstimmung damit konnten wir durch Insulin den lipolytischen Effekt von Dibutyryl-3',5'-cyclo-AMP nicht beeinflussen (unveröffentlichte Versuche).

Beim Menschen konnte eine antilipolytische Wirkung des Insulins aufgrund früherer *in vivo*-Versuche vermutet werden, da unter Kohlenhydrat- und/oder Insulinbelastung neben den FFS auch das GLYC im Blut absank (MUELLER u. EVANS, 1961; CARLSON u. ORÖ, 1963; ZIMMER u. Mitarb., 1964). An isolierten menschlichen Fettzellen konnten GALTON und BRAY 1967 einen antilipolytischen Insulineffekt zwar nicht bestätigen, doch hat BJÖRNTORP (1967) kürzlich über eine Hemmung der basalen Lipolyse durch Insulin am Fettgewebe *in vitro* berichtet. Eine Wirkung wurde

Tabelle 2. Signifikanz des antilipolytischen Effekts steigender Insulinkonzentrationen auf die hormonstimulierte Lipolyse. Angegeben ist die durchschnittliche Metabolitfreisetzung in Prozent des Basalwertes (kursiv) und die Wahrscheinlichkeit (2 P) für die Mittelwertdifferenz

Metabolitproduktion	Noradrenalin-stimulierte Lipolyse n = 8					Adrenalin-stimulierte Lipolyse n = 6					
	Insulin $\mu$ E/ml	0	0.1	1.0	10	100	0	0.1	1.0	10	100
Glycerin	0	217	—	< 0.02	< 0.001	< 0.001	188	—	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	0.1		207	< 0.05	< 0.001	< 0.001	182		< 0.001	< 0.001	< 0.001
	1.0			175	< 0.02	< 0.001		157	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	10				136	< 0.005			124		< 0.001
	100					95					99
Freie-Fettsäuren	0	161	—	< 0.05	< 0.001	< 0.001	181	< 0.025	< 0.001	< 0.001	< 0.001
	0.1		145	< 0.05	< 0.001	< 0.001	156		< 0.02	< 0.001	< 0.001
	1.0			127	< 0.05	< 0.005		128	< 0.005	< 0.001	< 0.001
	10				101	< 0.02			99		< 0.005
	100					76					76

Diskussion

Der antilipolytische Effekt des Insulins wurde erstmalig 1963 von JUNGAS u. BALL am Fettgewebe der Ratte *in vitro* beschrieben. Ihre Beobachtungen wurden durch verschiedene nachfolgende Untersuchungen an Fettgewebsschnitten (MAHLER u. Mitarb., 1963; 1964; BALL u. JUNGAS, 1964; RENOLD u. Mitarb., 1965) und an isolierten Fettzellen (RODBELL u. JONES, 1966; FAIN u. Mitarb., 1966; HEPP u. Mitarb., 1967) der Ratte und anderer Laboratoriumstiere (RUDMAN

allerdings nur mit Insulinkonzentrationen von 100  $\mu$ E/ml oder mehr erreicht. Rückschlüsse auf eine physiologische Bedeutung des Hormons für die Regulation der Lipolyse konnten aus diesen Versuchen noch nicht gezogen werden, da derartig hohe Wirkspiegel im menschlichen Serum mit immunologischen Methoden nur unter Belastungstests, z. B. mit Glucose oder Sulfonylharnstoffen, oder unter pathologischen Bedingungen nachgewiesen werden.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde die Insulinempfindlichkeit des menschlichen Fettgewebes

systematisch an der Hemmung der Katecholamin-stimulierten Lipolyse im glucosefreien Medium *in vitro* getestet (Abb. 3 u. 4). Signifikante Insulineffekte traten bei 1  $\mu$ E/ml auf. Durch 100  $\mu$ E Insulin/ml wurde die lipolytische Wirkung von Katecholaminen völlig unterdrückt, selbst wenn diese in Konzentrationen zugesetzt wurden, die weit über denjenigen lagen, die im Serum (Adrenalin) (GOLDFIEN u. Mitarb., 1961 WALLACE u. Mitarb., 1965) bzw. Gewebe (Noradrenalin) (STOCK u. WESTERMANN, 1963) nachweisbar sind. Insulin hemmte die Produktion von FFS und GLYC in nahezu gleicher Weise. Eine Stimulation der intracellulären Rückveresterung von FFS hatte demnach einen geringen oder keinen Anteil an der antilipolytischen Wirkung des Insulins.

Nachdem kürzlich die Stimulation des Glucosestoffwechsels am menschlichen Fettgewebe *in vitro* mit physiologischen Insulinkonzentrationen gelungen ist (GRIES u. STEINKE, 1967b; GOLDRICK, 1967), erbringen die vorliegenden Versuche zur Lipolysehemmung einen weiteren Nachweis für die ausgeprägte Insulinempfindlichkeit dieses Gewebes *in vitro*. Sie unterstützen die Annahme, daß Insulin auch *in vivo* eine wesentliche Rolle in der Regulation des Fettgewebstoffwechsels spielt. Wie am Fettgewebe der Ratte, tritt die antilipolytische Wirkung bereits mit Insulinkonzentrationen ein, die zu einer Stimulation des Glucosestoffwechsels noch nicht ausreichen. Es wäre demnach denkbar, daß beim Absinken des Insulinspiegels im Blutserum unter pathologischen Bedingungen die Lipolyse noch gehemmt wird, wenn ein regelrechter Glucosestoffwechsel schon nicht mehr möglich ist. Ob solche Verhältnisse bei bestimmten Formen des Diabetes mellitus vorliegen, wird zur Zeit von uns untersucht.

*Danksagung.* Die Arbeit wurde mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft und das Landesamt für Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen durchgeführt. Herrn Dr. FLEITMANN, Farbwerke Hoechst, danken wir für die Überlassung von Insulin und den Kollegen der Chirurgischen Universitätsklinik Düsseldorf (Direktor Prof. Dr. DERRA) für die Hilfe bei der Gewinnung von Gewebeproben.

#### Literatur

- ANTONIS, A., A.S. PLATT, and J.M. THORP: Automated method for the colorimetric determination of plasma free fatty acids. *J. Lipid Res.* **6**, 301—306 (1965).
- BALL, E.G., and R.J. JUNGAS: Some effects of hormones on the metabolism of adipose tissue. *Recent Progr. Hormone Res.* **20**, 183—214 (1964).
- BERGSTRÖM, S., and L.A. CARLSON: Inhibitory action of prostaglandine E<sub>2</sub> on the mobilisation of free fatty acids and glycerol from human adipose tissue *in vitro*. *Acta physiol. scand.* **63**, 195—196 (1965).
- BRECH, W., u. E.S. GORDON: Die physiologische Rolle des Fettgewebes. *Klin. Wschr.* **45**, 905—917 (1967).
- BJÖRNTORP, P.: The effect of insulin *in vitro* on human adipose tissue from normal and diabetic subjects. *Acta med. scand.* **181**, 389—402 (1967).
- BUTCHER, R.W., R.J. HO, H.C. MENG, and E.W. SUTHERLAND: Adenosine 3', 5'-Monophosphat in biological materials II. The measurement of adenosine 3', 5'-monophosphate in tissues and the role of the cyclic nucleotide in the lipolytic response of fat to epinephrine. *J. biol. Chem.* **240**, 4515—4523 (1965).
- J.G.T. SNEYD, C.R. PARK, and E.W. SUTHERLAND: Effect of insulin on adenosine 3', 5'-monophosphate in rat epididymal fat pad. *J. biol. Chem.* **241**, 1651—1653 (1966).
- CARLSON, L.A., and P.R. BALLY: Inhibition of lipid mobilisation. In: RENOLD A.E., and G.F. CAHILL, Eds., "Handbook of Physiology, Section 5, Adipose Tissue", p. 557. Washington 1965.
- , and L. ORÖ: Studies on the relationship between the concentration of plasma free fatty acids and glycerol *in vivo*. *Metabolism* **12**, 132—142 (1963).
- DOLE, V.P.: A relation between nonesterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. *J. clin. Invest.* **35**, 150—154 (1956).
- , and H. MEINERTS: Microdetermination of long-chain-fatty acids in plasma and tissue. *J. biol. Chem.* **235**, 2595—2599 (1960).
- FAIN, J.N., D.J. GALTON, and V.P. KOVACEC: Effect of drugs on the lipolytic action of hormones in isolated fat cells. *Mol. Pharmacol.* **2**, 237—247 (1966a).
- V.P. KOVACEC, and O. SCOW: Antilipolytic effect of insulin in isolated fat cells of rats. *Endocrinology* **78**, 773—778 (1966b).
- FROESCH, E.R., H. BÜRGI, P. BALLY, and A. LABHART: Insulin inhibition of spontaneous adipose tissue lipolysis and effects on fructose and glucose metabolism. *Mol. Pharmacol.* **1**, 280—296 (1965).
- GALTON, D.J., and G.A. BRAY: Studies on lipolysis in human adipose cells. *J. clin. Invest.* **46**, 621—629 (1967).
- GOLDFIEN, A., S. ZILELLI, DeWitt GOODMAN, and G.W. THORN: The estimation of epinephrine and norepinephrine in human plasma. *J. clin. Endocr.* **21**, 281—295 (1961).
- GOLDRICK, R.B.: Effects of insulin on glucose metabolism in isolated human fat cells. *J. Lipid Res.* **8**, 581—588 (1967).
- GRIES, F.A., and J. STEINKE: Insulin and human adipose tissue *in vitro*: a brief review. *Metabolism* **16**, 693—696 (1967a).
- — Comparative effects of insulin on rat adipose tissue segments and isolated fat cells of rat and man. *J. clin. Invest.* **46**, 1413—1421 (1967b).
- HEPP, D., P.L. POFFENBARGER, J.W. ENSINCK, and R.H. WILLIAMS: Effects of non-suppressible insulinlike activity and insulin on glucose oxidation and lipolysis in isolated adipose cells. *Metabolism* **16**, 393—401 (1967).
- JUNGAS, R.L.: Role of cyclic 3', 5'-AMP in the response of adipose tissue to insulin. *Proc. nat. Acad. Sci. (USA)* **56**, 757—763 (1966).
- , and E.G. BALL: Studies on the metabolism of adipose tissue XII. 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).
- KREUTZ, F.H.: Enzymatische Glycerinbestimmung. *Klin. Wschr.* **40**, 362—363 (1962).
- LOCHNER, W., u. M. NASSERI: Untersuchungen über den Herzstoffwechsel und die Coronardurchblutung, insbesondere bei Dinitrophenol-Vergiftung. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **271**, 405—419 (1960).
- MAHLER, R., S. STAFFORD, M.E. TARRANT, and J. ASHMORE: The effect of insulin on lipolysis. *Diabetes* **13**, 297—302 (1964).
- MUELLER, P.S., and W.H. EVANS: Responses of plasma glycerol concentrations to epinephrine, norepinephrine

- glucose, insulin and prolonged fasting in man. *J. Lab. clin. Med.* **61**, 953—961 (1963).
- MÜLLER, W.A., H. BÜRGI, J.L. GINSBERG, A. LABHART, and E.R. FROESCH: Biological properties of purified nonsuppressible insulin-like activity. *Diabetologia* **1**, 77—78 (1965) (Abstract).
- PREISS, H., G. THAMER, F.A. GRIES, H.-G. SOLBACH u. K. JAHNKE: in Vorbereitung.
- RENOLD, A.E., B. CROFFORD, H. BÜRGI, and E.R. FROESCH: In: "On the nature and treatment of diabetes", p. 146. B.S. LEIBEL and G.A. WRENSHALL, Eds. Amsterdam: Excerpta Medica Foundation 1965.
- RIZACK, M.: Activation of an epinephrine-sensitive lipolytic activity from adipose tissue by adenosine 3', 5'-phosphate. *J. biol. Chem.* **239**, 392—395 (1964).
- RODBELL, M., and A.B. JONES: Metabolism of isolated fat cells III. The similar inhibitory action of phospholipase C (*Clostridium perfringens* alpha-toxine) and of insulin on lipolysis stimulated by lipolytic hormones and theophylline. *J. biol. Chem.* **241**, 140—142 (1966).
- RUDMAN, D., and P.W. SHANK: Comparison of the responsiveness of perirenal adipose tissue of rat, hamster, guinea pig, and rabbit to the antilipolytic action of insulin. *Endocrinology* **79**, 565—571 (1966).
- STEINBERG, D., M. VANGHAN, D. NESTEL, O. STRAND, and S. BERGSTRÖM: Effects of prostaglandines in hormone-induced mobilisation of free fatty acids. *J. clin. Invest.* **43**, 1533—1540 (1964).
- STOCK, K., E. BÖHLE, and E. WESTERMANN: Differential effects of prostaglandine E<sub>1</sub> on lipolysis induced by various lipolytic stimulins: 2. *Int. Symp. on drugs affecting lipid metabolism*. D. KRITCHEVSKY, R. PAOLETTI and D. STEINBERG, Eds. Basel 1967.
- , and E.O. WESTERMANN: Concentration of norepinephrine, serotonin, and histamine, and of amine-metabolising enzymes in mammalian adipose tissue. *J. Lipid Res.* **4**, 297—304 (1963).
- VAUGHAN, M., and D. STEINBERG: Glyceride biosynthesis, glyceride breakdown and glycogen breakdown in adipose tissue: Mechanisms and regulation. In: "Handbook of Physiology, Section 5, Adipose Tissue", p. 239. A.E. RENOLD and G.F. CAHILL, Eds. Washington 1965.
- WALLACE, J.M., and W.R. HARLAN: Significance of epinephrine in insulin hypoglycemia in man. *Amer. J. Med.* **38**, 531—539 (1965).
- ZIMMER, G., F.A. GRIES, u. K. JAHNKE: Das Verhalten von Metaboliten des Fettstoffwechsels im Serum adipöser und nicht-adipöser Personen bei oraler Kohlenhydratzufuhr und kurzfristiger Nahrungskarenz. *Klin. Wschr.* **42**, 1020—1024 (1964).

Priv.-Doz. Dr. med. F.A. GRIES  
2. Medizinische Klinik und  
Poliklinik der Universität  
4 Düsseldorf  
Moorenstr. 5