

**Aus dem Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig**

**Effekte einer Chromhefezugabe auf die glycemischen
und insulinämischen Reaktionen bei insulinresistenten
Ponies und Pferden**

**INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig**

**eingereicht von
Barbara Oßwald
aus Neuried**

Leipzig, 2011

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig:

Dekan: Prof. Dr. Arwid Dauschies

Betreuer: PD Dr. Ingrid Vervuert

Gutachter: PD Dr. Ingrid Vervuert

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik
Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig

Prof. Dr. Bernd Schröder

Institut für Physiologie

Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

Tag der Verteidigung: 08.02.2011

Für DUN ITS BONNIE JOE und ANTONIUS MAXIMUS
(1996-2003) (2002-2005)
- meinen beiden Kämpfern, die ihre letzte Schlacht verloren haben -

und meinen Eltern
in Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Abkürzungen

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	2
2.1	Definition des Equinen Metabolischen Syndroms	2
2.2	Vorkommen und klinisches Erscheinungsbild des EMS	2
2.3	Pathogenese des equinen metabolischen Syndroms in Anlehnung an das metabolische Syndrom beim Menschen	4
2.3.1	Insulinresistenz	4
2.3.2	Ursachen der Insulinresistenz auf zellulärer Ebene	5
2.4	Folgen der Insulinresistenz für den Organismus	12
2.4.1	Glucotoxizität	13
2.4.2	Insulintoxizität	14
2.5	Risikofaktoren für die Entstehung von EMS	16
2.5.1	Bewegungsmangel	16
2.5.2	Quantität der Energiezufuhr	16
2.5.3	Qualität der Energiezufuhr	17
2.6	Einsatz von Chrom zur Behandlung des metabolischen Syndroms	18
2.6.1	Wertigkeit	18
2.6.2	Chrom, Absorption und Transport	19
2.6.3	Serumgehalt und Organspeicherung	19
2.6.4	Bindung von Chrom an den Insulinrezeptor	20
2.6.5	Chromausscheidung	20
2.6.6	Weitere Chromverluste	20
2.6.7	Toxizität	20
2.6.8	Chromgehalt in Futtermitteln	21
2.6.9	Biologische Wirksamkeit	21
2.6.10	Chrombedarf	23
2.6.11	Studien über die Wirkung von Chrom im Organismus bei Mensch und Pferd	23

3	Tiere, Material und Methoden	27
3.1	Versuchsziel	27
3.2	Versuchsübersicht	27
3.3	Vorversuch	27
3.3.1	Durchführung Vorversuch	27
3.4	Hauptversuch	29
3.4.1	Pferde / Ponies	29
3.4.2	Haltung der Pferde und Ponies	29
3.4.3	Fütterung der Versuchspferde und -ponies	29
3.4.4	Chromsupplementation	31
3.4.5	Stärketoleranztest	32
4	Untersuchungsmethoden	33
4.1	Körpergewicht vor und nach Supplementierung	33
4.2	Erhebung des BCS HENNEKE et al. (1983)	33
4.3	Untersuchungsmethoden der Blutproben im Vorversuch	33
4.4	Untersuchungsmethode zur Glucosebestimmung im Hauptversuch	34
4.5	Untersuchungsmethode zur Bestimmung von Insulin im Hauptversuch	35
4.6	Statistische Auswertung	35
5	Ergebnisse	36
5.1	Vorversuch	36
5.1.1	Glucosekonzentration im Plasma	36
5.2	Hauptversuch	38
5.2.1	Körpergewichtsentwicklung	38
5.2.2	Body Condition Score (BCS)	38
5.2.3	Glucosekonzentration im Plasma vor Behandlungsbeginn	39
5.2.4	Glucosekonzentration im Plasma nach Behandlungsende	40
5.2.5	Insulinkonzentration im Plasma vor Behandlungsbeginn	42
5.2.6	Insulinkonzentration im Plasma nach Behandlungsende	44
5.2.7	Beziehung zwischen Plasmaglukosekonzentration und Plasmainsulinkonzentration	47
5.2.8	Beziehung zwischen den Veränderungen der Plasmaglukosekonzentration bzw. Plasmainsulinkonzentration und den Veränderungen in der KM	49
5.3	Zusammenfassung der Ergebnisse	51

6	Diskussion	52
6.1	Kritik der Methoden	52
6.1.1	Auswahl der Versuchstiere	52
6.1.2	Haltung und Fütterung	52
6.1.3	Auswahl der Chromhefe und Dosierung	53
6.1.4	Supplementationsdauer	54
6.1.5	Rechtsgrundlage	55
6.1.6	Stärkedosierung im Stärketoleranztest	57
6.1.7	Durchführung des Stärketoleranztest	57
6.1.8	Diagnostik der Insulinresistenz	58
6.1.9	KM - Entwicklung	60
6.2	Nüchternwerte von Glucose und Insulin beim Pferd und ihre Bedeutung beim equinen metabolischen Syndrom	63
6.3	Veränderungen im Glucosestoffwechsel- und Insulinreaktion vor und nach Chromsupplementation	65
7	Schlussfolgerung	70
8	Zusammenfassung	71
9	Summary	73
10	Literaturverzeichnis	75
11	Anhang	96

Danke

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Chromgehalt in verschiedenen Futtermitteln (entnommen VERVUERT et al. 2005)	21
Tabelle 2: Bedarfsempfehlungen für eine tägliche Chromaufnahme beim Menschen	23
Tabelle 3: Chromsupplementation beim Menschen	24
Tabelle 4: Anzahl der Vorversuchspferde, Rassezugehörigkeit, Alter und BCS	28
Tabelle 5: Blutprobenentnahmezeitpunkt und Parameter - Plasma Glucose	28
Tabelle 6: Alter, Geschlecht, Rasse, KM und Body Condition Score der Versuchspferde bei Versuchsbeginn	30
Tabelle 7: Anzahl der Pferde, Rasse, Alter und BCS der chromsupplementierten Gruppe	31
Tabelle 8: Anzahl der Pferde, Rasse, Alter und BCS der placebosupplementierten Gruppe	31
Tabelle 9: Plasma Glucosekonzentration der 27 Hauptversuchspferde (HV) in (mmol/l, MW \pm SD) und Plasma Glucosekonzentration (mmol/l, MW \pm SD) der ausgeschiedenen Pferde (AG) nach definierter Stärkeaufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM bis 180 min postprandial.	36
Tabelle 10: ID, Plasma Glucosepeak (mmol/l), Zeit des Glucosepeak (min ppr.) der 27 ausgewählten Hauptversuchsprobanden nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM	37
Tabelle 11: Körpergewicht (kg, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) und Differenz (kg, %) vor und nach Behandlung	38
Tabelle 12: BCS (MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) und Differenz vor und nach Behandlung	38
Tabelle 13: Plasmaglucoose - Peak (mmol/l), Zeitpunkt des Peaks (min) und Fläche unter der Glucosekurve (AUC) für die Placebo- (N=12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung	41
Tabelle 14: Plasmaglucoosekonzentrationen (mmol/l, MW \pm SD) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebo- (N=12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung	41
Tabelle 15: Plasmainsulinkonzentrationen (mmol/l, MW \pm SD) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkte (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebo- (N=12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung.	44
Tabelle 16: Plasmainsulin - Peak (μ U/ml), Zeitpunkt des Peaks (min) und die Fläche unter der Insulinkurve (AUC) für die Placebo- (N=12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung	46
Tabelle 17: Beziehung zwischen Plasmaglucoose und Plasmainsulin für die Placebo - bzw. Chromsupplementierung nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM	48
Tabelle 18: Beziehung zwischen der Fläche unter der Glucosekurve (AUC (mmol/l x min/l)) und der Differenz der KM (kg) in %, für die Placebo - (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM nach Behandlungsende	51
Tabelle 19: Regressionsgleichung zwischen der Fläche unter der Insulinkurve	51
Tabelle 20: Zusammenfassung der Ergebnisse	51
Tabelle 21: Parameter der Insulinsensitivität	59
Tabelle 22: Verschiedene Parameter, ihre Acronyme Berechnung der Parameter	61

Tabellenverzeichnis

Tabelle 23:Glucosewerte (mmol/l) der Versuchspferde postprandial nach Aufnahme von 1,5g Stärke/kg KM im Vorversuch zu den Zeitpunkten 0 (vor der Fütterung), 1h (1 Stunde nach der Fütterung), 2h (2 Stunden nach der Fütterung) und 3h (3 Stunden nach der Fütterung)	96
Tabelle 24:BCS für die Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach der Behandlung	97
Tabelle 25:BCS für die Placebosupplementierung (N = 12) vor und nach der Behandlung	97
Tabelle 26:Körpermasse (KM in kg) für die Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach der Behandlung	98
Tabelle 27:Körpermasse (KM in kg) für die Placebosupplementierung (N = 12) vor und nach der Behandlung	98
Tabelle 28:Plasmainsulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung (N = 15) vor der Behandlung.	99
Tabelle 29:Plasmainsulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung (N = 15) nach der Behandlung.	100
Tabelle 30:Plasmainsulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (n =12) vor der Behandlung.	101
Tabelle 31:Plasmainsulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (n =12) nach der Behandlung.	102
Tabelle 32:Plasmaglukosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung (N = 15) vor der Behandlung	103
Tabelle 33:Plasmaglukosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung (N = 15) nach der Behandlung	104
Tabelle 34:Plasmaglukosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (n =12) vor der Behandlung	105
Tabelle 35:Plasmaglukosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (n =12) nach der Behandlung	106

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Verlauf der Plasma Glucosekonzentration (mmol/l, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM VOR Behandlungsbeginn, Behandlung p = 0,91, Zeit p < 0,001, Zeit x Behandlung p = 0,275 39
- Abbildung 2: Verlauf der Plasma Glucosekonzentration (mmol/l, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM NACH Behandlungsbeginn, Behandlung p = 0,671, Zeit p < 0,001, Zeit x Behandlung p = 0,896 40
- Abbildung 3: Differenzen der Plasmaglucosekonzentrationen (mmol/l, MW) zwischen dem Behandlungsende und -beginn nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM, Behandlung p = 0,987 42
- Abbildung 4: Verlauf der Plasmainsulinkonzentration (μ U/ml, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM VOR Behandlungsbeginn, Behandlung p = 0,136, Zeit p < 0,001, Zeit x Behandlung p = 0,016 43
- Abbildung 5: Verlauf der Plasmainsulinkonzentration (μ U/ml, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM NACH Behandlungsende, Behandlung p = 0,344, Zeit p < 0,001, Zeit x Behandlung p = 0,921 45
- Abbildung 6: Differenzen der Plasmainsulinkonzentrationen (μ U/ml, MW) zwischen dem Behandlungsbeginn und -ende nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM, Behandlung p = 0,353, Zeit p < 0,001, Zeit x Behandlung p = 0,146 x p < 0,05 Cr/ vs Placebo. 47
- Abbildung 7: Korrelation zwischen Plasmaglucosekonzentration (mmol/l) und Plasmainsulinkonzentration (μ U/ml) für die Placebo- (N = 12) und Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM VOR UND NACH Behandlung 48
- Abbildung 8: Korrelation zwischen Plasmaglucosekonzentration - Peak Differenz (mmol/l) und der KM Differenz in % für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM zwischen Behandlungsbeginn und Behandlungsende 50
- Abbildung 9: Korrelation zwischen Plasmainsulin - Peak Differenz und KM Differenz Korrelation zwischen Plasmainsulin - Peak Differenz (μ U/ml) und der KM (kg) Differenz in % für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM zwischen Behandlungsbeginn und Behandlungsende 50

Abkürzungen

Abkürzungen

Abb.	Abbildung	IL1/IL6	Interleukin1/6
ACIM	American College of Veterinary Internal Medicine	IR	Insulinresistenz
Ad.lib.	ad libitum	IS	Insulinsensitivität
AG	Ausgeschiedene Versuchspferde	Iss	Steady state Plasmainsulinkonzentration
AGEs	Advanced glycation endproducts	kg	Kilogramm
AMG	Arzneimittelgesetz	KH	Kohlenhydrate
AMPK	Activated protein kinase	KM	Körpermasse
ApoA-1	ApolipoproteinA1	LDL	Low density lipoprotein
AUC	Fläche unter der Kurve	LMWCR	Low molecular weight chrombin- ding substance
AVAs	Arteriovenous anastomoses shunts	MAPK	Mitogen-activated protein kinase
BCS	Body condition score	MCR	Metabolic clearance rate of endogenous insulin
BGss	Steady state Plasmaglukosekonzentration	mg	Milligramm
BMI	Body mass index	min	Minuten
B%	Abschätzung des prozentualen Anteil der β Zellfunktion	MIRG	Modifiziertes Insulin/ Glucose Verhältnis
11- β -HSD1	11- β - Hydroxysteroiddehydrogenase	MJ	Megajoule
Cr	Chrom	ml	Milliliter
DE	verdauliche Energie	MMP9	Matrix-Metalloproteinase9
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung	mmol	millimol
dl	Deziliter	MW	Mittelwert
EG	Europäische Gemeinschaft	μ U	mikro Unit
EFSA	Europäische Behörde für LM - Sicherheit	μ g	Mikrogramm
EMS	Equines Metabolisches Syndrom	N	Anzahl
ET-1	Endothelin-1	N	Stickstoff
et al.	et alii	NDF	Neutral-Detergenz-Faser

Abkürzungen

EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft	NEFA	Non ester fatty acids
Fa.	Firma	nm	Nanometer
FF	Fat (and) fibre	NSC	Non structural carbohydrates
%Fat	%Körperfettanteil	OCD	Osteochondrosis dissecans
FFS	flüchtige Fettsäure	p	Irrtumswahrscheinlichkeit
FFM	Fat-Free-Mass	PBEF	Pre-B-cell-colony-factor
FGIR	Nüchtern Glucose/Insulin Verhältnis	pH	potentia hydrogenii
g	Gramm	PI3 Kinase	Phosphatidylinositol-3-kinase
G	Glucose	PLMS	Prelaminitis metabolic syndrome
GDH	Glucosedehydrogenase	POD	Peroxidase
GIR	Glucoseinfusionsrate	ppr.	postprandial
Glut1/Glut4	Glucosetransporter ¼	PTP1B	Phosphotyrosinephosphatase 1B
GOD	Glucoseoxidase	Quicki	Sensitivitäts check index
GTF	Glucosetoleranzfaktor	r	Korrelationskoeffizient
H2O2	Wasserstoffperoxid	R2	Besimmtheitsmaß
HDL	High density lipo-protein	Rfa	Rohfaser
HMS	Humanes Metabolisches Syndrom	Rfe	Rohfett
HOMA	Homeostasis Model	RISQI	Reziproker Kehrwert von Insulin
HS-CRP	high sensitivity c-reactive protein	RNS	Reactive nitrogen species
HV	Hauptversuchspferde	ROS	Reactive oxygen spezies
I	Insulin	SD	Standardabweichung
ICAM1	Inter-Cellular Adhesion Molecule 1	Tab	Tabelle
ID	Identified	TNF	Tumornekrosefaktor
IDF	International Diabetes Federation	TS	Trockensubstanz
I.E.	Internationale Einheiten	VLDL	very low density lipoprotein
IGF1	Insulin-like growth factor 1		

1 Einleitung

Der Begriff Equines Metabolisches Syndrom wurde erstmals von JOHNSON (2002) in der Veterinärmedizin eingeführt. In Anlehnung an das humane metabolische Syndrom kam JOHNSON (2002) zu dem Schluss, dass Übergewicht, Insulinresistenz und Hufrehe bei Pferden und Ponies die Komponenten eines klinischen Syndroms darstellen (ACVIM Consensus Statement 2009). Das equine metabolische Syndrom (EMS) entsteht vornehmlich bei genetisch prädisponierten Pferden (SPLAN et al. 2003) durch übermäßige Energiezufuhr (KRONFELD et al. 2005) und Bewegungsmangel. Die dadurch bedingte Ansammlung hormonell aktiven Fettes führt zu einer gesteigerten Cortisolaktivierung, Insulinresistenz, Glucotoxizität, Endotheliopathie, Hypertonie und Dyslipidämie (REAVEN 1998, POTENZA und MECHANIK 2009, ASPLIN et al. 2007). Der Insulinresistenz scheint eine zentrale Rolle bei der Entstehung des equinen metabolischen Syndroms zuzukommen. Die Insulinresistenz bedingt eine verminderte Wirkung des Insulins an seiner Zielzelle, was eine reduzierte Insulin-Rezeptor-Tyrosin-Kinase Aktivität zur Folge hat. Zur Kompensation sezernieren die β -Zellen des Pankreas hohe Konzentrationen an Insulin; Hyperinsulinämie ist die Folge. Die Hyperinsulinämie in Kombination mit einer gestörten Glucosetoleranz kann bei betroffenen Individuen zu einer Endotheliopathie und im Weiteren zur Ausbildung einer Hufrehe führen. Klinisch dominieren abnorme subcutane Fettansammlungen, insbesondere im Nackenbereich, im Schulter- und Kruppenbereich, sowie am Präputium und vor dem Euter (JOHNSON et al. 2002, FRANK et al. 2007, CARTER et al. 2009), chronische Hufrehe, Polyurie, Polydipsie, Polyphagie, Lethargie und Infertilität (JOHNSON et al. 2002, SESSION et al. 2004).

Chrom wurde 1959 als Bestandteil des Glucose-Toleranz-Faktors entdeckt (SCHWARZ 1959) und fand somit Eingang in die Forschung der Spurenelemente- und Ernährungsphysiologie. In den letzten Jahren wurden im Bereich der Humanmedizin viele Supplementationsversuche mit Chrom in den unterschiedlichsten Applikationsformen (Chromhefen, Chrompicolinat, Chromtripicolinate etc.) zur Verbesserung der Insulinresistenz durchgeführt (KAATS et al. 1996, PASSMANN et al. 1997). Es gibt verschiedene Hinweise für eine Funktion von Chrom im Glucose- und Lipidstoffwechsel (MERZ 1998, VINCENT 2004). Eine Chromsupplementation bei betroffenen Personen zeigte bei einem großen Anteil der Probanden einen positiven Effekt auf die Glucosetoleranz (ANDERSON 1997/1998, SINGER 2006) und die Insulinsensitivität (MARTIN 2006). Auch in der Pferdemedizin wurden verschiedene Supplementationsversuche mit Chrom durchgeführt (PAGAN et al. 1993, GENTRY et al. 1999, OTT und KIVIPELTO 1999, CARTMILL et al. 2003, VERVUERT et al. 2005). Die Ergebnisse in der Literatur über die Wirkung von Chrom waren zum Teil widersprüchlich. Ziel dieser Studie war es, die Supplementation von Chrom, zur Verbesserung der glykämischen und insulinämischen Reaktionen bei insulinresistenten Pferden und Ponies zu untersuchen.

2 Schrifttum

2.1 Definition des Equinen Metabolischen Syndroms

In Anlehnung an das humane metabolische Syndrom entstand die Definition des equinen metabolischen Syndroms, wobei die Insulinresistenz ebenfalls die zentrale Rolle spielt (JOHNSON et al. 2002). Vor dieser Zeit hatten bereits JOHNSON und GANJAM (1999) dieses Krankheitsbild als peripheres Cushing Syndrom bezeichnet. Das EMS ist wie das HMS durch die Entwicklung von Übergewicht, Insulinresistenz, Hypertension und Dyslipidämie gekennzeichnet und entsteht bei genetisch prädisponierten Individuen durch eine Kombination aus übermäßiger Kalorienzufuhr und Bewegungsmangel (TREIBER et al. 2004, KRONFELD et al. 2005). Das EMS wird zudem beeinflusst durch vielfältige Faktoren, wie Alter, Rasse, Entzündungsstatus des Organismus, Fastenperioden, Trächtigkeit und Laktation, Training, Zusatzstoffe und Medikamente (Xylazin, Corticosteroide) (FIRSHMAN und VALBERG 2007, CARTER et al. 2009)

Als klinische Komponenten finden sich charakteristischerweise beim EMS zum einen Übergewicht, welches regional an spezifischen Bereichen und/oder generalisiert auftritt. Die regionale Adipositas findet sich subcutan im Bereich des Nackenbandes, an der Schulterpartie und im Kruppenbereich, sowie am Präputium bzw. im Euterbereich. In den meisten Fällen liegt eine generalisierte Adipositas vor, allerdings sind auch Fälle bekannt, bei denen die betroffenen Pferde und Ponies eine normale Körperkonstitution aufweisen.

Weiter findet man bei den erkrankten Ponies und Pferden eine Insulinresistenz, welche charakterisiert wird durch eine Hyperinsulinämie und Hyperglycämie auf eine orale oder intravenöse Glucose- oder Insulingabe, und eine bestehende klinische oder subklinische Hufrehe. Bei der klinischen Rehe dominieren Lahmheit und radiologisch erkennbare Veränderungen; bei der subklinischen Form finden sich charakteristischerweise divergierende Ringe im Hufhorn, eine verbreiterte weiße Linie und röntgenologische Veränderungen im Sinne einer Rotation des Hufbeines ohne Lahmheitsanzeichen (FRANK et al. 2009).

2.2 Vorkommen und klinisches Erscheinungsbild des EMS

Betroffene Ponies und Pferde sind meistens zwischen 8 und 18 Jahren alt (JOHNSON 2002). Neuere Studien geben allerdings Hinweise darauf, dass eine Prädisposition für eine Erkrankung am metabolischen Syndrom in späteren Lebensjahren, bereits in den ersten Lebensjahren durch verschiedene äußere Faktoren z.B. durch Fütterung mit stärkereichen Rationen (TREIBER et al. 2005) und genetisch bedingte Faktoren (Ponyzuchten) (KRONFELD et al. 2006, BAILEY et al. 2007), bei den einzelnen Individuen vorhanden ist.

Eine Geschlechtsspezifität konnte nicht nachgewiesen werden (JOHNSON et al. 2004), wohingegen eine familiäre, in weiblicher Generationenfolge auftretende Erkrankung am EMS, in einer Versuchsponyherde dargestellt werden konnte (TREIBER und KRONFELD 2006). Hauptsächlich betroffen sind die leichtfuttrigen Rassen, insbesondere verschiedene Ponyrassen, Morgan Horses und Spanische Mustangs (JOHNSON et al. 2002).

Die erkrankten Patienten sind typischerweise übergewichtig (BCS zwischen 7-9, auf einer Skala von 1-9 nach HENNEKE et al. 1983), wobei abnorme Fettansammlungen an klassischen Stellen (regionale Adipositas wie z.B. am Mähnenkamm (cresty neck), supraorbitale Augengruben, subcutane Fettpolster am Schweifansatz und in der Schulterregion etc.) beobachtet werden (FRANK et al. 2007). Anhand eines sogenannten Cresty Neck Score wird die Fetteinlagerung im Bereich des Mähnenkammes bestimmt. Die Skala reicht von 0-5 und Werte > 3 werden häufig bei an EMS erkrankten Pferden vorgefunden (CARTER et al. 2009). Ein Score von 3 bedeutet, dass sich eine deutlich vermehrte Fettansammlung im mittleren Mähnenkambereich befindet, der Mähnenkamm wirkt deutlich verbreitert und in sich sehr fest.

Eine weitere Methode zur Bestimmung der Mähnenkammbreite ist eine Messung mittels Maßband, gemessen an der mittleren Position zwischen Atlas und Widerrist bei normaler Kopfhaltung (FRANK et al. 2006). Diese ermittelte Breite wird dann ins Verhältnis gesetzt zu der Widerristhöhe. Ein Wert über 0,71 gilt als kritischer Bereich für Pferde und Ponies im Hinblick auf die Entstehung einer ernährungsbedingt verursachten Hufrehe (CARTER et al. 2009).

VICK et al. (2007) konnten einen Zusammenhang zwischen ansteigendem BCS und dem Auftreten einer Insulinresistenz aufzeigen. Das Alter der betroffenen Pferde scheint hierbei jedoch eine herausragende Rolle zu spielen. Demnach zeigten jüngere Stuten mit einem hohen BCS eine deutliche Verschlechterung ihrer Insulinsensitivität, während bei älteren Stuten (> 20 Jahre) mit einem hohen BCS nicht dieselben negativen Auswirkungen auf die Insulinsensitivität beobachtet werden konnten.

Zusätzlich wiesen VICK et al. (2007) bei Stuten mit einem hohen BCS ein vermehrtes Auftreten von IL-1, TNF- α (Tumornekrosefaktor) und TNF-p im Blut nach. Dabei handelt es sich um sogenannte Cytokine, welche an verschiedensten Entzündungsreaktionen im Körper beteiligt sind und ihren Entstehungsort vermutlich im visceralen Fettgewebe haben (VICK et al. 2007).

Ähnlich wie beim Menschen vermutet man einen sich selbst unterhaltenden Kreislauf von zunehmender entzündlicher Reaktion des Fettgewebes, zunehmender Adipokinsynthese sowie eine Steigerung der Produktion von Acute Phase 2 Proteinen in der Leber. Dies führt beim Menschen zu einem sogenannten „chronischen Entzündungsstadium“ des Organismus (RASOULI und KERN 2008).

Als weitere klinische Faktoren im Hinblick auf an EMS erkrankten Ponies und Pferden können auftreten:

- eine Hypertriglyceridämie oder eine Dislipidämie (TREIBER et al. 2006, FRANK et al. 2006, CARTER et al. 2009). Ansteigende Konzentrationen von VLDL-Triglyceriden wurden ebenfalls bei betroffenen Pferden vorgefunden (FRANK et al. 2006).
- eine Hyperleptinämie, welche durch die vermehrte Sekretion an Leptin durch die Adipozyten entsteht. Bei betroffenen Pferden und Ponies findet sich zudem eine Leptinresistenz. Leptin bestimmt über eine Rückantwort zum Hypothalamus den Sättigungszustand eines Individuums. Besteht eine Leptinresistenz so entfällt diese Wirkung, betroffene Pferde und Ponies haben dadurch ein fehlendes Sättigungsgefühl (CARTMILL et al. 2003, HOUSEKNECHT et al. 2003).
- Bluthochdruck wurde bei rehegegefährdeten Ponies vorgefunden (LAMOUNIER-ZEPTER et al. 2006).
- Zyklusfunktionsstörungen bei Stuten. Ein kompletter Verlust der saisonal bedingten anovulatorischen Phase, als auch eine Veränderung der Zykluslänge wurde bei betroffenen Stuten vorgefunden (GENTRY et al. 2002).

Bei Ponies wurden zudem im Vergleich zu Großpferden deutlich höhere Plasma Glucosekonzentrationen postprandial gemessen, was ebenso ein Hinweis auf die erhöhte Neigung zur Erkrankung am metabolischen Syndrom bei Ponies sein kann (JEFFCOTT et al. 1986).

CARTMILL et al. (2003) fanden überdies bei übergewichtigen Pferden ein ähnliches Hormonprofil vor wie beim Diabetes Typ 2 des Menschen, welches gekennzeichnet ist durch eine Hyperinsulinämie, Hyperglycämie und Hyperleptinämie.

2.3 Pathogenese des equinen metabolischen Syndroms in Anlehnung an das metabolische Syndrom beim Menschen

2.3.1 Insulinresistenz

Den Begriff der Insulinresistenz benutzten erstmals HIMSWORTH und KERR (1939) und charakterisierten damit die relativ geringe Wirkung von exogenem Insulin bei adipösen Patienten mit Diabetes mellitus. Eine Insulinresistenz wird beim Menschen zunächst definiert als eine Stoffwechselsituation, bei der eine physiologische Insulinkonzentration lediglich eine subnormale biologische Antwort induziert (KAHN 1978, RIZZA et al. 1981, METCALF und WEEKES 1988). Hieraus resultiert ein Stoffwechselzustand mit hohen Insulinwerten bei normaler oder erhöhter Blutzuckerkonzentration (BLOOMGARDEN 1989). Die Insulinresistenz steht im Mittelpunkt einer generalisierten Stoffwechselstörung (REAVEN 1988) und kann der Manifestation eines Diabetes vom Typ 2 um Jahre vorausgehen (WARRAM 1990).

KELLERER (2001) wies nach, dass bei der Insulinresistenz die biologische Antwort auf endogenes oder exogenes Insulin vermindert ist. Die Folge davon ist, dass an der Zielzelle das Insulin seine Wirkung nicht mehr vollständig entfalten kann. Als Kompensationsversuch auf das verminderte Ansprechen der Zielorgane schütten die Inselzellen des Pankreas vermehrt Insulin aus. Über die Vorstadien einer erhöhten Nüchtern-glucose (beim Mensch, kaum beim Pferd) und einer gestörten Glucosetoleranz entwickelt sich ein Diabetes mellitus (WARRAM 1990).

Da die Krankheit beim Menschen als auch beim Pferd schleichend verläuft, äußert sie sich zunächst in einer postprandialen Hyperinsulinämie (CARTMILL 2003, TREIBER et al. 2005). Beim Fortschreiten kommt es zur konstanten Hyperinsulinämie, zur gestörten Glucosetoleranz und erhöhten Nüchtern-glucose beim Menschen (WARRAM 1990). Beim Pferd hingegen, ist die am häufigsten beobachtete Vorkommensweise eine kompensierte Form der Insulinresistenz, welche durch eine konstante Hyperinsulinämie und eine gestörte Glucosetoleranz (keine erhöhte Nüchtern-glucose) charakterisiert wird (REEVES et al. 2001, MC GOWAN et al. 2004, TREIBER et al. 2005).

2.3.2 Ursachen der Insulinresistenz auf zellulärer Ebene

Ursachen der Insulinresistenz beim Menschen bestehen entweder aus einer verminderten Ansprechbarkeit der β Zellen des Pankreas (Prärezeptor - Level) und/oder einer verminderten Rezeptorendichte bzw. Rezeptorenaffinität (Rezeptor - Level) und/oder der Störung der intrazellulären Signalübertragung nach Bindung des Insulins am Rezeptor (Postrezeptor-Level) (VERNON und SASAKI 1991).

Eine temporäre Insulinresistenz beim Pferd und Pony kann durch entzündliche Prozesse, Infektionen, Trächtigkeit, Fettleibigkeit, Urämie, Cortisol- und Wachstumshormonüberschuss bedingt sein (FOWDEAN et al. 1984, FIRSHMAN und VALBERG 2007).

Verschieden Medikamente sind in der Lage, eine temporäre Insulinresistenz hervorzurufen. So begünstigt eine 7-tägige Dexamethasongabe bei gesunden Warmblütern die Entstehung einer Insulinresistenz und eine erhöhte Insulinantwort der β - Zellen um ein Vielfaches im Vergleich zur Kontrollgruppe (TILEY et al. 2007). Glucocorticoide erhöhen die Gluconeogeneserate in der Leber und verhindern eine Glucose- Aufnahme in die Zellen im peripheren Gewebe. Xylazin (-Adrenorezeptor Antagonist) hemmt die Insulinfreisetzung aus den β - Zellen des Pankreas, daraus resultiert eine Hyperglycämie. Dies spielt v. a. eine Rolle bei Pferden, welche bei Blutprobenentnahmen sediert werden müssen- falsch positive Ergebnisse sind die Folge (GREENE et al. 1987).

Während der Trächtigkeit besteht eine physiologische Insulinresistenz mit erhöhter Antwortbereitschaft der β - Zellen der Mutter auf Glucose. Die Insulinsensitivität des mütterlichen Organismus ist in diesem Falle erniedrigt, so dass die Glucose hauptsächlich dem Fetus zur Verfügung bereitgestellt wird. Nach 270 Tagen der Trächtigkeit, kommt es zu einem Abfall der Insulinkonzentration, wahrscheinlich durch eine Erschöpfung der β - Zellen (FOWDEAN et al. 1984).

2.3.2.1 Anti-Hyperglycämische Faktoren

Insulin

Insulin ist ein Peptidhormon, welches in den B-Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas gebildet wird. Dabei wird zunächst das Praeinsulin synthetisiert. Unter Abspaltung von 23 Aminosäuren vom N-terminalen Ende der Peptidkette erfolgt die Sekretion in die Zisternen des Endoplasmatischen Reticulums und es entsteht das Proinsulin. Dieses wird in den Vesikeln des Golgi-Apparates gespeichert. So kann es innerhalb weniger Minuten nach einem Stimulus zu ersten Insulinreaktionen kommen (GIRAUDET et al. 1994).

Bei der Aufnahme in den Golgi-Apparat wird ein Zwischenstück aus der Peptidkette - das C-Peptid - abgespalten. Das Insulin besteht letztendlich aus der A- und der B-Kette, welche eine Länge von 21 bzw. 30 Aminosäuren aufweisen und über zwei Disulfidbrücken verbunden sind (THEWS et al. 1999; VOIGT 2003).

Das Insulin der verschiedenen Tierarten unterscheidet sich lediglich durch geringe Unterschiede in der Aminosäuresequenz (WUTTKE 2000). Als physiologische Insulinkonzentration im Plasma gelten beim Pferd Werte zwischen 2-25 $\mu\text{U/ml}$ (RALSTON 2002). Diese Insulinkonzentration im Plasma weist - abhängig von der Futteraufnahme - deutliche Schwankungen auf. FRANK et al. (2009) bezeichneten Nüchterinsulinwerte von $> 20 \mu\text{U Insulin/ml Plasma}$ als Zeichen einer bestehenden Insulinresistenz (ACVIM Consensus Statement 2009).

Insulin stellt einen der wichtigsten Modulatoren der Glucosehomöostase dar. Seine Ausschüttung wird im Ruhezustand überwiegend durch die Blutglucosekonzentration gesteuert. So kommt es infolge einer nahrungsinduzierten Hyperglycämie zu einem vorübergehenden deutlichen Anstieg (STANGASSINGER 2000). Die Glucose gelangt über einen carrier-vermittelten Transport in die B-Zelle und bewirkt dort die Ausschleusung des Insulins. Die Freisetzung wird zusätzlich durch gastro-intestinale Hormone gesteigert (VOIGT 2003). Nach Futteraufnahme kommt es zu einem sehr raschen Insulinanstieg innerhalb von 30 Minuten, wohingegen nach einer Verabreichung des Futters per Nasenschlundsonde, der Anstieg wesentlich langsamer erfolgt und direkt dem Blutglucoseanstieg folgt. Daraus ist zu schließen, dass der frühe starke Anstieg durch neurale Reflexe bei der Futteraufnahme bedingt ist, wohingegen die Konzentration später durch den erhöhten Glucosespiegel aufrechterhalten wird (DE PEW et al. 1994).

Die Sekretion wird über eine sympathische und parasympathische Innervation der Beta-Zellen durch das autonome Nervensystem beeinflusst (WUTTKE 2000). In Ruhe kommt es zu einer Stimulation über α -Adrenorezeptoren. Bei Nahrungsaufnahme kann auch durch eine Vagusaktivierung die Ausschüttung gefördert werden. Im Gegensatz dazu wirken α -Adrenorezeptoren hemmend, so zum Beispiel bei Nahrungskarenz oder schwerer, lang anhaltender Arbeit (VOIGT 2003). Zusätzlich wirkt Insulin in hohen Konzentrationen selbstlimitierend (FISCHER 1994). Insulin induziert an seinen Zielzellen über die Interaktion mit einem Membranprotein Glucose-Carrierproteine. Diese fördern den Glucosetransport durch die Zellmembran von Ske-

lettmuskel-, Herzmuskel- und Fettgewebszellen im Rahmen einer "erleichterten Diffusion" (STANGASSINGER 2000). In der Leber wird die Glucoseaufnahme über freie Diffusion gefördert. Insulin stimuliert in der Zelle die Phosphorylierung der Glucose zu Glucose-6-Phosphat über das Enzym Glucokinase.

Glucose-6-Phosphat kann nicht mehr diffundieren und die Zelle verlassen (STANGASSINGER 2000; WUTTKE 2000). Der Gradient für nichtphosphorylierte Glucose bleibt aufrecht erhalten, was letztlich die Aufnahme erhöht (VOIGT 2003).

Weitere Wirkungsmechanismen des Insulins liegen in einer Hemmung der Glycogenolyse und der Gluconeogenese, sowie der Steigerung der Glycolyse mit Bildung von Pyruvat und Laktat (VOIGT 2003).

Die Aufnahme von Aminosäuren in die Muskelzelle und die Proteinsynthese werden durch Insulin gefördert, die Proteolyse und die Ausschleusung von Aminosäuren gehemmt (VOIGT 2003). Enzyme, welche die Gluconeogenese aus Aminosäuren fördern, werden ebenfalls gehemmt (STANGASSINGER 2000).

Auch in der Fettzelle wird die Aufnahme von Glucose verstärkt. Es kommt hier zu einer Bildung von Glycerophosphat, welches die Veresterung von Fettsäuren zu Triglyceriden fördert. Des Weiteren wird die Lipolyse gehemmt, ebenso wie die Bildung von Ketonkörpern (VOIGT 2003). Insulin wirkt sich somit auf Leber, Muskulatur und Fettgewebe aus und führt zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels. Es handelt sich um ein anaboles Hormon, welches der Nährstoffspeicherung dient (VOIGT 2003).

Insulin bewirkt zudem einen Anstieg der ET1 Produktion (JUAN et al. 2004) durch Aktivierung der MAPK. Als Reaktion auf steigende ET1 Plasmaspiegel konnte eine Vasokonstriktion der betroffenen Blutgefäße beim Menschen nachgewiesen werden (SCHIEKOFER et al. 2000). Sowohl bei akuter als auch bei chronischer Rehe wurden vermehrte Konzentrationen an ET1 im Lamellengewebe des Hufes von KATWA et al. (1999) gemessen.

Demgegenüber steht die von STEINBERG et al. (1994) beobachtete Steigerung des Blutflusses in die Muskelzellen des Menschen durch den Einfluss von Insulin. Dabei bewirkt Insulin eine Steigerung der endothelialen Nitrooxidproduktion durch vermehrte PI-3Kinase Synthese, welche wiederum zu einer Vasodilatation führen kann (GORRY und TUCK 2001).

Bis zu 25% des stimulierenden Effekts von Insulin auf die Glucoseaufnahme der Muskelzellen resultieren aus der direkten Wirkung des Insulins auf die Vasodilatation der Gefäße und die dadurch bedingte bessere Ausnutzung des kapillären Systems (BARON et al. 1995).

Leptin

Ein Sekretionsprodukt der Adipozyten stellt das Leptin dar, welches in vielfältiger Weise in physiologische Prozesse involviert ist, angefangen mit dem Energiestoffwechsel bis hin zur Immunologie, Knochenstoffwechsel und Fertilität (RAJALA und SCHERRER 2003). Physiologische Leptinkonzentrationen im Plasma schwanken zwischen < 5 ng/ml - 7 bis 20 ng/ml abhängig vom BCS (GENTRY et al. 2002b). Im Rahmen des metabolischen Syndroms sind zwei Aspekte von Leptin bedeutsam:

Seine Rolle als liporegulatorisches Hormon und die Aktivierung des sympathischen Nervensystems. Es zeigte sich sowohl bei adipösen Humanpatienten als auch bei übergewichtigen Ponies ein deutlich erhöhter Leptinspiegel, welcher mit der Fettmasse korreliert (PROLO et al. 1998, SPIEGELMANN 2001, BUFF et al. 2001, CARTMILL et al. 2004, KEARNS et al. 2005).

Zusätzlich scheint Leptin ein Indikator für das Vorliegen einer Insulinresistenz zu sein, da bei Ponies mit einer Insulinresistenz auch gleichzeitig ein signifikant erhöhter Leptinspiegel vorgefunden wurde (Van WEYENBERG et al. 2008).

Dieser erhöhte Leptinspiegel ist gleichzeitig aber auch ein Zeichen einer Leptinresistenz, in deren Folge Leptin seine Funktion den Sättigungszustand zu regulieren nicht mehr erfüllen kann (BUFF et al. 2000 und 2001, CARTMILL et al. 2003). Damit ist das Leptin das wichtigste Adipokin für die Entstehung der adipositasassoziierten Hypertonie beim Menschen (CORREIRA und RAHMOUNI 2006). Leptin scheint zusätzlich in der Lage zu sein, die Produktion von Cytokinen in Monozyten anzuregen (SANCHEZ - MARGALET et al. 2003).

Verschiedene Hormone und Medikamente stimulieren die Sekretion von Leptin beim Menschen, Ratten und Schweinen: Insulin (LARSSON und AHREN 1996, MIELL et al. 1996, SIVITZ et al. 1998, RAMSAY und WHITE 2000), GH (ISOZAKI et al. 1999), Glucocorticoide (WANG et al. 2002, CARTMILL et al. 2003a), Epinephrin (CAMMISOTTO et al. 2002), Prolaktin (MASTRONEWSKI et al. 2000) sowie Schilddrüsenhormone (GHIZZONI 2001, CARTMILL et al. 2003). Für das Pferd konnte eine Steigerung der Leptinsekretion durch Glucocorticoide sowie durch die Verabreichung von Schilddrüsenhormonen erreicht werden (CARTMILL et al. 2003/2003a). GENTRY et al. (2001) konnten überdies eine positive Korrelation zwischen einem hohen BCS und der Konzentration an zirkulierendem Leptin im Plasma bei Pferden nachweisen.

BUFF et al. (2000) wiesen zudem eine bei Hengsten und Wallachen deutlich höhere Konzentration an zirkulierendem Leptin als bei Stuten nach. Nach Korrektur des Körperfettanteils beim Menschen scheinen allerdings bei Frauen generell höhere Leptinkonzentrationen als bei Männern vorzuliegen (CASTRACHE et al. 1998, PINEICO 1999).

Adiponectin

Ein weiteres Sekretionsprodukt der Adipozyten des Menschen stellt das Adiponectin dar, welches mit zunehmender Adipositas reduziert sezerniert wird (HOTTA et al. 2001, YATAGI et al. 2003). KEARNS et al. (2006) konnten ebenfalls eine verminderte Adiponectinausschüttung bei zunehmender Adipositas beim Pferd nachweisen. Verringerte Adiponectinspiegel korrelieren prospektiv mit dem Risiko für Diabetes Typ 2 und Myokardinfarkt beim Menschen (BERG et al. 2005). Verringerte Adiponectingehalte im Blut führen beim Humanpatienten zu einer herabgesetzten Fettsäureoxidation im Muskel (HEILBRONN et al. 2004, BERG et al. 2005), einer gesteigerten Gluconeogenese in der Leber (CEDDIA et al. 2005, BERG et al. 2005), einer gesteigerten Adhäsivität des Endothels (HUG und LODISH 2005, GOLDSTEIN et al. 2005) und einer gesteigerten Proliferation in der Media der Gefäßwand (BERG et al. 2005). Damit ist Adiponectin nicht nur ein wichtiger Regulator des Glucose- und Lipidstoffwechsels, sondern auch ein vasoprotektiver Faktor (HUG und LODISH 2005, GOLDSTEIN et al. 2005, BERG et al. 2005). Der Grund für die verringerte Bildung von Adiponectin scheint die gesteigerte Bildung von Sauerstoffradikalen in den Adipozyten zu sein (ENGELI et al. 2007). Beim Pferd liegen solche weiterführende Untersuchungen bislang nicht vor.

Omentin

DE SOUZA et al. (2007) konnten bei normalgewichtigen Individuen einen signifikant höheren Omentinspiegel als bei Übergewichtigen feststellen. Die Genexpression zeigte sich hierbei rückläufig bei steigendem Gewicht, so dass der Plasmaspiegel an Omentin negativ korreliert mit dem BMI, Bauchumfang, Leptinplasmaspiegel und Insulinresistenz sowie positiv korreliert für Adiponectinplasmaspiegel und HDL - Spiegel beim Menschen (DE SOUZA et al. 2007). Für das Pferd liegen keine entsprechenden Arbeiten vor.

Visfatin

Visfatin (früher auch PBEF = pre-B-cell-colony factor) stellt ein vom Fettgewebe sezerniertes Cytokin beim Menschen dar, welches insulinähnliche Wirkung aufweist. Ein ansteigender Visfatinspiegel findet sich bei übergewichtigen Patienten (FILLIPATOS et al. 2007). Ansteigende Visfatinspiegel korrelieren positiv mit einem vermehrten Auftreten von Entzündungsmediatoren (OKI et al. 2007). Auch für Visfatin liegen keine Studien am Pferd vor.

Die Inhibition von Visfatin verursacht sowohl *in vitro* als auch *in vivo* eine Verminderung der Insulinsekretion in den pankreatischen Beta - Zellen.

2.3.2.2 Pro-hyperglycämische Faktoren

Resistin

Die Bedeutung von Resistin für die Insulinresistenz beim Menschen ist umstritten. Heute gilt dieses Adipokin als Inflammationsmarker. Als Quelle von Resistin gelten nicht die Adipozyten, sondern die Makrophagen des Fettgewebes (CURAT et al. 2006). Ähnlich wie für Leptin konnten ansteigende Plasmaspiegel von Resistin in übergewichtigen Individuen nachgewiesen werden. Resistin hemmt die insulinabhängige Aufnahme von Glucose in die Adipozyten. Es steigert über eine Hemmung der AMPK (AMP activated protein kinase) die Gluconeogenese in der Leber. Eine Therapie mit Medikamenten, welche die Insulinsensitivität verbessern, verursachen gleichzeitig einen sinkenden Plasmaspiegel an Resistin beim Menschen (STEPHAN et al. 2001). Für das Pferd liegen bisher keine entsprechenden Studien vor.

Interleukine, TNF- α , HS-CRP Konzentration

Die Konzentration an zirkulierendem Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-1 (IL-1), TNF- α und HS-CRP (high - sensitive C reaktives Protein) sind beim metabolischen Syndrom beim Menschen (KERN et al. 1995, GOOD et al. 2006) als auch beim Pferd (VICK et al. 2007) deutlich erhöht und spiegeln eine subklinische chronische Entzündung im Körper wider. Interleukine und TNF- α werden im Fettgewebe des Menschen synthetisiert (ARNER 2005). Auch beim Pferd wird als Entstehungsort das Fettgewebe vermutet (VICK et al. 2007). Es entsteht ein Kreislauf zwischen gesteigerter Sekretion, Induktion von Inflammation und Insulinresistenz in Leber, Muskel und Fettgewebe, wodurch eine weitere Steigerung der Zytokinproduktion resultiert (FITZGERALD 2004, VICK et al. 2007 , VICK et al. 2008).

Il- 6 und TNF- α hemmen beim Menschen zusätzlich die Produktion von Adiponectin (MAEDA et al. 2002, ENGELI et al. 2003). Auf molekularbiologischer Ebene steigert TNF- α die Phosphorylierung von IRS1 und reduziert die Expression von GLUT4 und führt somit zur Insulinresistenz (SOMMER 2004).

TNF- α bewirkt nicht nur eine Hemmung der Insulinsignalübertragung in Muskel und Fettgewebe, sondern es vermindert auch die insulininduzierte Synthese von Stickoxid, verstärkt die ET1 Produktion, induziert oxidativen Stress, bewirkt eine gesteigerte Produktion von adhäsiven Molekülen (ICAM 1 und VCAM1 + E Selectin) und reduziert die Abwehrfunktion des Immunsystems (KIM et al. 2006).

VICK et al. (2006) stellten an 60 übergewichtigen Stuten den Zusammenhang zwischen dem Auftreten von bestimmten Cytokinen insbesondere TNF- α und einer Insulinresistenz beim Pferd dar.

Dabei konnten VICK et al. (2006) zum einen belegen, dass ansteigende Konzentrationen von TNF- α eine negative Korrelation mit einer Insulinsensitivität der untersuchten Stuten bedingen. Das Alter spielt allerdings eine entscheidende Rolle. Bei Stuten über 20 Jahren wurde eine

deutliche Verschlechterung der Insulinsensitivität beim Ansteigen der TNF- α Konzentrationen festgestellt, während bei Stuten unter 20 Jahren keine Korrelation zwischen den beiden genannten Faktoren bestand. Zusätzlich konnten sie aufzeigen, dass bei steigendem BCS und ansteigendem Körperfettanteil eine positive Korrelation mit ansteigenden Konzentrationen an TNF- α und IL-1 besteht.

11- β -Hydroxysteroiddehydrogenase

Weiter enthalten die Adipozyten beim Pferd die 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase 1 (11 β HSD1), welche die Umwandlung des inaktiven 11-Ketoderivates Cortison in die aktive Form Cortisol bewirkt und die Differenzierung der Präadipozyten in hormonproduzierende Adipozyten forciert (BUJALASKA et al. 1997, MASUZAKI et al. 2001, SANDEEP et al. 2001, JOHNSON et al. 2002).

MONTAGUE et al. (2000) konnten bei übergewichtigen Personen eine deutlich erhöhte Aktivität der 11 β -Hydroxysteroiddehydrogenase feststellen. Neben der Wirkung auf die Blutgefäße (potenzierende Wirkung der Katecholamine) und den Blutglucose- und Insulinspiegel (BUJALASKA et al. 1997 und 1999) zeigen Glucocorticoide ebenfalls eine Wirkung auf den Fettstoffwechsel (MONTAGUE et al. 2000).

So konnten MONTAGUE et al. (2000) nachweisen, dass Cortisol die Fettumverteilung mit Ansammlung von v. a. omentalem Fett und ungewöhnlichen subkutanen Fettdepots, sowie eine Stimulation der Differenzierung von Präadipozyten zu hormonell aktiven Adipozyten bewirkt.

Durch das Vorhandensein von Cortisol wird auch die Leptinsekretion angeregt (CARTMILL et al. 2003). Der Plasmaleptinspiegel ist gegenüber normalgewichtigen Individuen deutlich erhöht, Polyphagie ist die Folge.

Weiter stimuliert Cortisol die Freisetzung einer hormon-sensitiven Lipase, was zur Freisetzung freier Fettsäuren führt (MÖSTLE 2000). An gentechnisch veränderten Mäusen wurde der enge Zusammenhang zwischen einer übermäßigen Produktion von 11 β HSD1 und dem Auftreten einer Fettleibigkeit aufgezeigt. Die Mäuse, welche einen hohen 11 β HSD1 Spiegel aufwiesen, entwickelten eine zunehmende Adipositas, eine Insulinresistenz, Hyperlipidämie und Typ 2 Diabetes (MASUZAKI et al. 2001).

Freie Fettsäuren

Die durch Cortisol gesteigerte Lipolyse insbesondere des visceralen Fettgewebes, bewirkt beim Menschen ein vermehrtes Angebot von zirkulierenden nichtveresterten Fettsäuren (NIELSEN 2004). Experimentell kann eine akute Anhebung der freien Fettsäuren bereits nach wenigen Stunden eine Insulinresistenz und eine endotheliale Dysfunktion beim Menschen auslösen (RODEN et al. 1996). Freie Fettsäuren vermindern die insulinvermittelte Produktion von Stickstoffmonoxid und damit die endothelial vermittelte Vasodilation und verstärken die Reagibilität der glatten Muskelzellen gegenüber alpha-adrenergen Vasokonstriktoren und Angiotensin II

(FURCHGOTT et al. 1998). Im Skelettmuskel beim Menschen kommt es durch freie Fettsäuren zur Hemmung der insulinvermittelten Glucoseaufnahme und des oxidativen Stoffwechsels; Myopathien als Folge können auftreten (UNGER 2002, BODEN 2001). Eine Hemmung der insulinvermittelten Glucoseaufnahme und oxidativen Stoffwechsels wird durch die Akkumulation zunehmender freier Fettsäuren verursacht. Dabei findet eine Beeinträchtigung des IRS/ PI3 Kinase Signalweges statt, der in einer verminderten Bereitstellung an GLUT4 resultiert (SHULMAN et al. 2000).

In Konsequenz kommt es zur Lipidakkumulation in der Zelle und letztendlich durch eine oxidative Metabolisierung der freien Fettsäuren zu einer Anhäufung toxischer Produkte (Ceramide), welche zur Dysfunktion der Zelle und dann zum programmierten Zelltod führt (HAYDEN und TYAGGI 2002).

Beim Shetlandpony konnte ein vermehrtes Vorkommen an freien Fettsäuren im Plasma im Vergleich zu Großpferden nachgewiesen werden (KOLB 1983). Neben der Problematik des equinen metabolischen Syndroms könnte dies ein Hinweis auf die beim Pony häufig anzutreffende Erkrankung im Sinne einer Hyperlipämie bzw. einer Hyperlipidämie sein (JEFFCOTT und FIELD 1985b, MOORE et al. 1994, MOOG et al. 1995, WATSON et al. 1999).

2.4 Folgen der Insulinresistenz für den Organismus

Verschiedene Krankheitsbilder werden mit dem Vorliegen einer Insulinresistenz in Verbindung gebracht. So scheint eine Insulinresistenz involviert in die pathologischen Vorgänge bei der Erkrankung am Cushing Syndrom (FRANK et al. 2006), einer Hyperlipidämie (JOHNSON 2002), sowie in die Entstehungsgeschichte einer OCD beim Jungpferd (RALSTON 1995).

Die am häufigsten mit dem EMS in Verbindung gebrachte Erkrankung ist die Hufrehe (COFFMANN et al. 1983, JEFFCOTT et al. 1986, TREIBER et al. 2005a und 2005b).

Obwohl bei jedem Pferd oder Pony experimentell z. B. durch Gaben von Stärke oder Fructan eine Hufrehe ausgelöst werden kann (GARNER et al. 1975, VAN EPS und POLLIT 2006), gibt es bestimmte Dispositionen einzelner Individuen, welche das Risiko an einer Hufrehe zu erkranken, für das Einzeltier signifikant erhöhen (MC.KELLAR 1990, TREIBER et al. 2006, BAILEY et al. 2007). Die enge Verbindung dieser beiden Krankheitsbilder zeigt sich in dem von TREIBER und KRONFELD gewählten Begriff des "prelaminitic metabolic syndrome (PLMS) bei Ponies. TREIBER und KRONFELD (2006) konnten belegen, dass bestimmte Individuen einer Herde, welche typische Symptome eines equinen metabolischen Syndromes zeigten - insbesondere an einer Insulinresistenz litten, ein deutlich höheres Risiko aufwiesen, an einer Hufrehe zu erkranken als vergleichbare Ponies.

Eine Glucoseintoleranz und eine Resistenz auf exogenes Insulin wurde bei Ponies gefunden, welche in ihrer Vergangenheit bereits an Hufrehe erkrankt waren (JEFFCOTT et al. 1986, COFFMANN und COLLES 1983). JEFFCOTT und FIELD (1985) demonstrierten eine abneh-

mende Glucosetoleranz und eine Intoleranz auf intravenös verabreichtes Insulin bei fettleibigen Reheponies im Vergleich zu normalgewichtigen Pferden. Sie folgerten, dass die Ponies eine Insulinresistenz kombiniert mit Stress aufwiesen und sich hieraus eine Hyperlipidämie und eine Hufrehe entwickelte. Dies geschah durch eine Insulinresistenz im peripheren Gewebe, welche wiederum einen Anstieg der freien Fettsäuren zur Folge hatte (JEFFCOTT und FIELD 1989). Plasmainsulinkonzentrationen korrelieren signifikant mit der Schwere der aufgetretenen Hufrehe und eine Abnahme der Plasmainsulinkonzentration zeigte eine signifikante Abnahme der Schwere der Hufrehe in einer Studie von WALSH et al. (2009).

2.4.1 Glucotoxizität

Die endothelialen Zellen regulieren den Blutfluß über verschiedene Mechanismen einschließlich der Beeinflussung der Koagulation und des Gefäßtonus (HSUEH et al. 1998). Eine Kontraktion oder Dilatation wird demnach durch die endothelabhängigen, gefäßerweiternden oder gefäßverengenden Faktoren ausgelöst: Stickoxid bewirkt eine Vasodilatation, steigende Endothelin-1 Spiegel eine Vasokonstriktion der Blutgefäße (FURCHGOTT et al. 1998, SCHIEKOFFER et al. 2000). Muskulatur- und Leberzellen beim Pferd beziehen ihre Glucose hauptsächlich wie der Mensch mit Hilfe des insulinabhängigen GLUT4 Transporters (JAMES et al. 1988/1989, MUECKLER 1990, KOTZKA et al. 1995, KAHN 1996, BRYANT 2002, MOORE et al. 1996, BURCELIN et al. 2003), während die Basalmembran der Lamellenschicht des Hufhornes - ähnlich wie das Gehirn - hauptsächlich auf den insulinunabhängigen GLUT1 Transporter angewiesen ist (ASPLIN et al. 2007). Die Hufregion im speziellen weist einen ungewöhnlich hohen Glucoseverbrauch auf (WATTLE und POLLIT 2004). In Abwesenheit von Glucose wird die Lamellenstruktur des Hufhornes zerstört (PASS et al. 1998, FRENCH und POLLIT 2004). Derselbe Vorgang findet auch bei Anwesenheit eines Insulinrezeptorblockers statt. Neuere Forschungsergebnisse belegen, dass Glucose zum großen Teil insulinunabhängig in das vorliegende Gewebe des Hufes aufgenommen wird (ASPLIN et al. 2007).

:Eine chronisch erhöhte Plasmaglucose beeinträchtigt Insulinwirkung und Insulinsekretion ("Glucotoxizität"), und zwar größtenteils durch Bildung reaktiver Sauerstoffspezies (z. B. Nitrotyrosin, 8-Hydroxy-2'-de-oxyguanosin). In vivo und in vitro wurden mehrfach ein zytostatischer und proapoptotischer Effekt auf die β -Zellen nachgewiesen. Auch Glucoseschwankungen, wie sie im prädiabetischen Stadium vorkommen können, beschleunigen womöglich den Verlust von β -Zellfunktion und -masse (DEL PRATO 2009).

Durch die andauernde Hyperglycämie erkrankter Pferde und Ponies kommt es vermutlich zur Glykosilierung der Zellproteine z.B. in den Endothelzellen und über die Produktion von AGEs (advanced glycation endproducts) zur Entstehung freier Radikale (reaktive oxygen species = ROS und reactive nitrogen species = RNS), welche das Bild des oxidativen Stresses auslösen (WATTS et al. 1998, GANONG 2001). Im Folgenden kommt es zur Hemmung der Stickoxidproduktion bei gleichzeitiger Steigerung von Endothelin-1, was wiederum zur Vasospastizität

und Hypertension führt (SCHIEKHOFER et al. 2000). Beim Pony wurden in der Vergangenheit weit reichende Untersuchungen zum Auftreten von Bluthochdruck und einer Hypertrophie der linken Herzkammer in Zusammenhang mit erhöhten ET-1-Spiegeln durchgeführt (GARNER et al. 1987). Bei Ponies bzw. Pferden, welche an Hufrehe erkrankt waren, konnten zudem erhöhte ET-1 Plasmaspiegel nachgewiesen werden (KATWA et al. 1999). Die erhöhte Produktion von ET-1 im Lamellengewebe des Hufhorns bei den an einem equinem metabolischen Syndrom leidenden Ponies und Pferden, scheint demnach einen Hinweis auf das häufig gemeinsame Auftreten von EMS und Hufrehe zu geben (KATWA et al. 1999). Zusätzlich zur gefäßverengenden und damit die Perfusion des Endstromgebiets unterdrückenden Einfluss von ET-1 (SCHIEKHOFER et al. 2000), lösen die oben genannten ROS eine Aktivierung von gewebszerstörenden Matrix - Metalloproteinasen aus. JOHNSON und TYAGGI (1998) zeigten, dass eine Hyperglycämie der betroffenen Pferde und Ponies und damit verbundene Produktion von ROS, eine gesteigerte Aktivität von MMP9 zur Folge hat. Dieser Anstieg der Metalloproteinase bewirkt eine Zerstörung der Lamellarschicht des Hufhorns und die oberliegenden Keratinozyten werden von der Lamellenstruktur losgelöst.

Eine weitere Folge der vermehrten Produktion an ROS ist die Aktivierung des Arachidonsäuremetabolismus, der zur Freisetzung vasoaktiver, insbesondere gefäßverengender Prostaglandine führt (TAYLOR et al. 2001). Dieser Mechanismus ist bis jetzt allerdings nur beim Menschen beschrieben worden. Zusätzlich zur Störung der Perfusion in Endstromgebieten durch Gefäßspasmen, weisen die Gefäßbahnen betroffener Individuen eine durch ROS und RNS verursachte hämostatische Dysfunktion, insbesondere eine Hyperkoagulationsneigung, auf (WEISS et al. 1994). Endotoxin aktivierter Plättchenaktivierungsfaktor bedingt die Entstehung von Blutplättchen- Plättchenaggregaten und/ oder Neutrophile - Blutplättchenaggregate (WEISS 1996). Diese Aggregate lokalisieren sich in der Hufwand und führen somit zu einer Thrombose in den betroffenen Gefäßstrukturen. WEISS et al. (1998) konnten den Zusammenhang zwischen Blutplättchen- Plättchenaggregaten, und der Entstehung der futterinduzierten Hufrehe nachweisen. Ein interessanter Aspekt ist die Tatsache, dass bei Ponies ein im Verhältnis zum Pferd deutlich erhöhter Gehalt an Thromboxanen in der Lamellenschicht des Hufhorns vorzufinden ist, was die erhöhte Neigung von Ponies zur Entwicklung einer Rehe, in Hinblick auf das Vorliegen einer Insulinresistenz erklären könnte (MC KELLAR et al. 1999).

2.4.2 Insulintoxizität

Das Vorliegen einer Insulinresistenz ist als wichtiger Prognosefaktor für am ECS erkrankten Pferde anzusehen (MC GOWAN et al. 2004). So konnte eine häufige Assoziation von Basalinsulinwerten > 188 U/ml und dem Auftreten einer Hufrehe bzw. eine verbleibende Lebenserwartung von < 2 Jahren bei den betroffenen Patienten festgestellt werden.

TREIBER et al. (2006) prägten den Begriff des prelaminitic metabolic syndrom (PMLS). Demnach sind bestimmte Mitglieder einer Pferdeherde mehr empfänglich für die Erkrankung an ei-

ner Hufrehe als andere Mitglieder derselben Herde.

Interessanterweise wiesen die PLMS Pferde deutlich erhöhte Insulinbasalwerte während den Frühjahr- und Sommermonaten auf im Vergleich zu den weniger hufreheempfindlichen Mitgliedern der Herde. Glucose, FFS und Cortisol lagen in physiologischer Konzentration vor (TREIBER et al. 2006, BAILEYS et al. 2008).

Beim Vorliegen einer Insulinresistenz wird die Stickoxidsynthese blockiert, während die ET1 Produktion eher überstimuliert wird. Dies führt zu einer massiven Vasokonstriktion bei gleichzeitigem Anstieg der Thrombozyten und zu einer Leukozytenadhäsion an den Gefäßwänden (EADES et al. 2007).

ASPLIN et al. (2007) konnten erstmals die Schlüsselrolle der Hyperinsulinämie bei der Entstehung der Hufrehe an gesunden Ponies aufzeigen und damit eine „Insulintoxizität“ nachweisen. Es wurde ein hyperinsulinämischer-euglycämischer Clamp Test durchgeführt, wobei bei den Ponies durch die mehrtägige Insulininfusion eine Rehe ausgelöst werden konnte.

ASPLIN et al. (2007) konnten eine Steigerung der Pulsamplitude an der Zehenarterie nach erfolgter Insulininfusion feststellen. Der verzeichnete erhöhte digitale Puls, die ansteigende Herzfrequenzrate der Versuchspanies und die ansteigende Wärme der Hufwand, weisen auf eine durch die Hyperinsulinämie verursachte, lang anhaltende vaskuläre Rückantwort hin.

Dieser verlängerte Blutstrom in die Hufregion führt zur rasch ansteigenden Glucoseaufnahme in die Endothelzellen der Lamellenschicht und in die Zellen des Kapillarsystems, trotz euglycämischen Bedingungen. Die Endothelzellen der Lamellarschicht sind reich an GLUT 1 Transporter (ASPLIN et al. 2007), wobei die Glucoseaufnahme insulinunabhängig verläuft. Die Zellen der Kapillarschicht und die Keratinozyten sind insulinabhängig. Sowohl in den Endothelzellen der Lamellenschicht als auch in der Kapillarschicht kommt es zu einem raschen Anstieg der Glucosekonzentration. Dieser Vorgang unterstützt die Hypothese der folgenden Glucotoxizität mit anschließender Endotheliopathie und microvaskulärer Dysfunktion.

Anhand von Versuchen an Ratten konnten KIHARA et al. (1994) zeigen, dass eine Insulinverabreichung bei euglycämischer Voraussetzung, eine Hypoxie im peripheren Nervengewebe verursacht, trotz ansteigendem Blutfluss in derselben Region (KIHARA et al. 1994). Diese Hypoxie kommt zustande aufgrund einer Perfusionsstörung durch dilatierte arteriovenöse Shunts (AVA's).

Die Hufrehe entsteht vermutlich demnach durch eine Minderversorgung des nutritiven Gewebes der Lamellarschicht durch dilatierte AVA's (POLLIT et al. 1990, POLLIT und MOLINEUX 1994). Hieraus resultiert eine Hypoperfusion der Lamellarschicht des Hufhorns trotz gesteigertem Blutstrom der Zehenarterie (HOOD et al. 1978).

Im Anschluss kommt es zur Hypoxie und Ischämie des betroffenen Gewebes (COFFMANN et al. 1970, ACKERMANN et al. 1975, HOOD et al. 1978, MARKS und BUDRAS 1987, MOORE et al. 1989, HERTSCH 1993).

Die haemodynamische Dysfunktion, hervorgerufen durch die anhaltende Hyperinsulinämie, re-

sultiert möglicherweise in einer verstärkten Expression von aktiven MMP2 und MMP9 (JOHNSON et al. 1998, POLLIT et al. 1998). Diese Enzyme sind in der Lage, die Basalmembran der Lamellarschicht zu zerstören (POLLIT und DARADKA 1998, FRENCH und POLLIT 2004). Alternativ wurde vermutet, dass Insulin ebenfalls eine direkte Wirkung auf die verstärkte Expression von aktiven MMP9 besitzt (FISCHOEDER et al. 2007, BODEN et al. 2007).

2.5 Risikofaktoren für die Entstehung von EMS

2.5.1 Bewegungsmangel

Als einer der Hauptgründe in der Entstehung einer Insulinresistenz wird immer wieder ein Bewegungsmangel und damit die Entstehung von Übergewicht aufgeführt (JOHNSON et al. 2002, RALSTON 2002, TREIBER et al. 2005, HARRIS et al. 2006).

POWELL et al. (2002) konnten eine Verbesserung der Insulinresistenz bei übergewichtigen Stuten durch tägliche leichte Arbeit (20 min Trabarbeit an der Longe) innerhalb von nur 8 Tagen erreichen.

Ähnlich konnte die Insulinsensitivität bei fettleibigen, hyperinsulinämischen Ponies innerhalb von nur zwei Wochen durch eine gesteigerte körperliche Aktivität nachweislich verbessert werden (RALSTON 2003). Die Insulinsensitivität verbesserte sich einerseits durch eine Reduktion des Glycogens in Muskel und Leber, durch eine bessere Bindung des Insulins an den Insulinrezeptor und schnellere bzw. steigende Glucoseaufnahme in die Muskelzellen (RALSTON 2003). PRATT et al. (2006) untersuchten 14 Warmblüter auf Veränderungen in ihrem Glucose- und Insulinstoffwechsel bei einer stärkereichen bzw. fettreichen Fütterung bei gleichzeitigem Trainingsprogramm. Nach 6 Wochen stärkereicher Fütterung zeigten die Pferde der mit Stärke gefütterten Gruppe, eine deutlich verminderte Insulinsensitivität und abnehmende Glucosetoleranz im Vergleich zur fettreich gefütterten Gruppe. Bei Absolvierung eines Trainingsprogrammes konnten die negativen Auswirkungen auf die Insulinsensitivität gemindert werden; allerdings wurde keine Verbesserung der Glucosetoleranz erreicht.

Ebenfalls keine Verbesserung der Glucosetoleranz und der Insulinresistenz, sowie ebenfalls keine Auswirkungen auf die subcutanen Fettdepots und Lipidkonzentrationen im Plasma verzeichneten CARTER et al. (2010) durch ein moderates Bewegungstraining von insulinresistenten, übergewichtigen Pferden. Sie schlossen hieraus, dass ein moderates Bewegungstraining ohne angepasste Reduktionsdiät nicht ausreicht, um Veränderungen im Glucose- und Insulinstoffwechsel herbeizuführen.

2.5.2 Quantität der Energiezufuhr

Als primäres Ziel bei der Prävention und Therapie des metabolischen Syndroms ist die Kontrolle des Körpergewichtes anzusehen (CARTER et al. 2009).

FREESTONE et al. (1992) untersuchten 10 hyperinsulinämische Ponies im Hinblick auf Veränderungen der Glucosetoleranz bzw. Insulinsensitivität bei energierestriktiver Fütterung und gleichzeitiger Bewegung. Die Gruppe, welche ein Bewegungsprogramm zu absolvieren hatte, zeigte nach 2 Wochen signifikant niedrigere Glucose- und Insulinwerte als die Kontrollgruppe. Alle Ponies wiesen nach 4 Wochen einen Gewichtsverlust auf. Nach 6 Wochen zeigten alle 10 Ponies deutlich verbesserte Glucose- und Insulinwerte, welche durch die Gewichtsabnahme in beiden Gruppen zu erklären sind. Durch eine Energierestriktion von 35% bis 70% des Erhaltungsbedarfes vom Optimalgewicht konnte VAN WYENBERG et al. (2008) eine Gewichtsreduktion von 16% der Ponies über einen Beobachtungszeitraum von 17 Wochen erreichen. Zusätzlich zeigten die Versuchsponies eine deutliche Verbesserung der Insulinregulation. Diese doch erhebliche Gewichtsreduktion war ohne nachteilige gesundheitliche Konsequenz für die Versuchspferde verbunden.

VERVUERT et al. (2008) konnten durch Stärkegaben $< 1,1 \text{ g/ kg KM}$ pro Mahlzeit bei einem hohen Aufschlussgrad des Stärketrägers eine sehr moderate Glucose und Insulinantwort bei gesunden Pferden erzielen. Bei einem am metabolischen Syndrom erkrankten Pferd wäre dies, falls aus unterschiedlichsten Gründen (Trächtigkeit und Laktation, vermehrter sportlicher Einsatz etc.) eine Fütterung mit Stärketrägern notwendig wird, eine relativ sicher erscheinende Möglichkeit eventuelle Störungen des Glucose- und Insulinstoffwechsels weitgehend zu vermeiden.

2.5.3 Qualität der Energiezufuhr

2.5.3.1 Nicht - Struktur - Kohlehydrate

Ein kausaler Zusammenhang zwischen einer schnellen und übermäßigen Aufnahme von Stärke und dem darauffolgenden Auftreten einer Hufrehe konnte in mehreren Studien belegt werden (GARNER et al. 1977, KRONFELD et al. 2003). Experimentiell konnte eine Hufrehe sowohl durch die Verabreichung großer Mengen an Stärke (GARNER et al. 1977) als auch durch große Mengen an Fructan (POLLIT et al. 2003) ausgelöst werden. POLLIT et al. (2003) verabreichten 3,75 kg - 6,25 kg Fructan pro 500 kg KM und löste damit bei allen Probanden eine Hufrehe aus. Demgegenüber steht allerdings die Beobachtung, dass die mittlere tägliche Fructanaufnahme auf der Weide in aller Regel zwischen 0,19 - 2,7 kg/d beträgt (LONGLAND und BYRD 2006). POTTER et al. (1992) konnten bei excessiven Stärkegaben $> 4\text{g/kgKM}$ eine Abflutung der Stärke in das Caecum bzw. Colon beobachten. Durch die Fermentation der Stärke durch die grampositive Bakterienflora kommt es zum einem zur Ausbildung einer Acidose (POTTER et al. 1992) und zum anderen, durch die Decarboxylierung verschiedener Aminosäuren zur Freisetzung vasoaktiver Amine (RICE und KOEHLER 1976), welche eine Vasokonstriktion der Blutgefäße bedingen. Auf die Verabreichung von Inulin wurden bei Ponies sehr individuelle Reaktionen hervorgerufen (BAILEY und HARRIS 2006). Die Insulinantwort auf das verab-

reichte Inulin fiel deutlich höher bei den mit Rehe vorbelasteten Ponies aus als bei den Kontrolltieren. Dies führte zu der Schlußfolgerung, dass die Fructan- bzw. Inulinaufnahme (z.B. über Gras bzw. Heu) individuell eine Insulinantwort bedingt und somit eine wichtige Rolle bei der Fütterung von Ponies mit einer Insulinresistenz bzw. einer Reheerkrankung spielt (BAILEY und HARRIS 2006).

2.5.3.2 Stärke vs. Fett in der Grundration

TREIBER et al. (2005) stellten die Auswirkung einer kohlenhydratreichen (zucker- und stärke-reiche Ration: 49% NSC je kg Futter) im Vergleich zu einer fett- und faserreichen Fütterung (fett- und faserreiche Ration: 12% NSC, 44% NDF, 10% Rohfett pro kg Futter) bei isoenergetischer Energieaufnahme auf den Glukosestoffwechsel bei Vollblutjährlingen dar.

Die Gruppe der Vollblutfohlen, die mit einer zucker- und stärke-reichen Grundration über 200 Tage gefüttert wurden, zeigte im Vergleich mit einer Gruppe von Vollblutfohlen, welche eine fett- und faserreiche Grundration erhielten, am Ende der Beobachtungsperiode eine herabgesetzte Insulinsensitivität, erhöhte Insulinkonzentrationen und erhöhte IGF1 Konzentrationen. Plasmakortisol- und Triglyceridwerte unterschieden sich nicht in beiden Gruppen. TREIBER et al. (2005) kamen zu dem Schluss, dass eine Fütterung gesunder Individuen, mit einem zu hohen Anteil an Stärke und Zucker, zu einer Insulinresistenz führt. Eine Ausnahme scheinen Vollblüter im Trainingszustand zu machen. RICHARDSON et al. (2006) konnten keine signifikante Verschlechterung der Insulinsensitivität an Vollblütern, welche mit hochenergetischem Futter über mehrere Wochen gefüttert wurden, feststellen.

Demgegenüber wiesen HOFFMANN et al. (2003) eine abnehmende Insulinsensitivität an 10 Vollblutwallachen nach, welche eine zucker- und stärke-reiche Diät über den Zeitraum von 3 x 8 Wochen erhielten. Eine ähnliche Untersuchung an adipösen Ponies ergab keinen nachteiligen Effekt auf die Insulinsensitivität bei hoher Stärkeaufnahme (SCHMIDT et al. 2001).

Von Bedeutung scheint auch die Qualität des Fettes bzw. des Pflanzenöles zu sein. TAOUIS et al. (2002) zeigten, dass Zulagen an Omega 3 Fettsäuren die Insulinregulation bei Ratten verbessern.

2.6 Einsatz von Chrom zur Behandlung des metabolischen Syndroms

2.6.1 Wertigkeit

Chrom gilt als ein essentielles Spurenelement, welches die Signalverstärkung von Insulin bewirkt. Chrom liegt in verschiedenen Oxidationsstufen Cr^{2-} bis Cr^{6+} vor. Die dominierende Form jedoch ist das Cr^{3+} . Diese Form wird vom menschlichen und tierischen Organismus nur schlecht resorbiert (Resorptionsrate: 0,5%) (MACKENZIE et al. 1959, STOECKER 2001, HAHN 2001, BIESALSKI et al. 2002), so dass verschiedene, besser resorbierbare, organische Formen von Cr^{3+} , wie z.B. das Chrompicolinat, Chromtrypicolinat und Chromhefen heute

eingesetzt werden (Resorptionsrate gesteigert auf 25 -30 %). Demgegenüber steht das für den Organismus toxisch wirkende Cr^{6+} , welches als Abfallprodukt in der Metallindustrie entsteht und im Gegensatz zu Cr^{3+} sehr viel schneller und besser vom Organismus resorbiert wird (Resorptionsrate: 2%) (MACKENZIE et al. 1959).

2.6.2 Chrom, Absorption und Transport

Das in Nahrungsmitteln enthaltende Cr^{3+} wird beim Menschen - gebunden an Aminosäuren - über die Mukosazellen des Dünndarms, vornehmlich im Jejunum, absorbiert. Die Resorption erfolgt durch passive Diffusion oder rezeptorvermittelt (BIESALSKI et al. 1999). Cr^{3+} wird beim Menschen nur zu 0,5 % in anorganischer und zu 25-30% in organischer Form resorbiert. Zudem wird die Resorption von zahlreichen Faktoren beeinflusst (STOECKER 2001, HAHN 2001, BIESALSKI et al. 2002, ELMADFA und LEITZMANN 2004, KASPER 2004). Mit steigendem Angebot an Chrom (40 - 250 $\mu\text{g}/\text{d}$) sinkt die Resorbtiionsrate auf etwa 0,4%. Bei niedrigeren Zufuhren hingegen (<10 $\mu\text{g}/\text{d}$) liegt die Absorbtiion dagegen bei 2%. Vitamine, wie Ascorbin- und Nicotinsäure als auch Aminosäuren und Oxalate, bewirkten bei Ratten eine gesteigerte Chromabsorption (CHEN et al. 1973). Eine steigende Chromresorption wurde zudem bei Ratten mit einem Zinkmangel vorgefunden (HAHN et al. 1975). Der Transport des resorbierten Cr^{3+} im Blut findet mit Hilfe einer Bindung an Transferrin statt. In in-vitro Versuchen konnte eine Bindung von Chrom auch an Albumin nachgewiesen werden (EWANS 1989). Steigende Insulinspiegel bewirken eine vermehrte Exposition an Transferrinrezeptoren vom Zellinneren an die Zelloberfläche. Hier bindet das metallgebundene Transferrin und wird in die Zelle durch Endozytose unter Freisetzung des gebundenen Metalls eingeschleust (VINCENT 2000). Dieser Prozess wird auch für Cr^{3+} postuliert. Des Weiteren scheint es einen Antagonismus zwischen Chrom und Eisen zu geben. Bei niedrigem Eisengehalt bzw. niedriger Eisenaufnahme bevorzugen Eisen und Chrom unterschiedliche Bindungsstellen am Transferrin. Bei einer höheren Eisenaufnahme konkurrieren jedoch beide um dieselbe Bindungsstelle (SARGEANT et al. 1979). Im Tierversuch zeigten Ratten, welche 1mg Cr/kg KM täglich über 45 Tage intraperitoneal injiziert bekamen, eine Anämie, verbunden mit einem Eisenmangel (ANI und MOSHTAGHIE 1992).

2.6.3 Serumgehalt und Organspeicherung

Der Chromgehalt des Serums bzw. Plasmas beim Menschen beträgt 0,01-0,05 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (ELMADFA und LEITZMANN 2004). Chrom wird zum größten Teil in Leber, Milz, Knochen und Weichteilgewebe, wie Niere und Lunge, gespeichert (BIESALSKI et al. 2002, DOMKE et al. 2004, SCHMIDT et al. 2004). Die Chrom-Konzentration in diesen Organen und Geweben liegt etwa zwischen 20 und 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ und schwankt nach geographischer Herkunft (ELMADFA und LEITZMANN 2004). Für das Pferd liegen hierfür keine Daten vor.

2.6.4 Bindung von Chrom an den Insulinrezeptor

Das Chromodulin bindet an die β Untereinheit des Insulinrezeptors (VINCENT 2000).

Es wird in der sogenannten apo-Form (Apochromodulin) im Zytosol der Zelle (CARTER et al. 1968) und im Kern insulinsensibler Zellen gespeichert (RAMIREZ und VINCENT unveröffentlicht). Bei ansteigenden Insulinplasmaspiegeln kommt es zur vermehrten Aufnahme von im Blut zirkulierendem Cr^{3+} in insulinabhängige Zellen (CHRISTIAN et al. 1963, CHEN et al. 1973). Das Apo chromodulin weist eine sehr starke Chromionen - Bindungskonstante auf und bewirkt damit eine Abspaltung vom Transferrin (CLANCY et al. 1994). Das so gebildete Holo chromodulin (4Cr^{3+} Chromodulin) bindet an die β Untereinheit des Insulinrezeptors und verstärkt somit die Signalwirkung von Insulin.

2.6.5 Chromausscheidung

Bei sinkendem Insulinspiegel wird das gebundene Chromodulin aus der Zelle ausgeschleust. Da die Bindung der Cr-Ionen sehr konstant ist, kann nicht alles Chromodulin über eine biologische Reduktion zurückgewonnen werden, sondern wird über die Nieren ausgeschieden (DO CANTO et al. 1995, BIESALSKI et al. 1999, ELMADFA und LEITZMANN 2004). 80 bis 97 % des glomerulär filtrierte Chroms werden renal rückresorbiert und dem Organismus wieder zur Verfügung gestellt (BIESALSKI et al. 1999).

Der Verlust an verbrauchtem Chromodulin aus den Zellen ist konstant im Verhältnis zur ansteigenden Menge an Chromodulin im Urin nach stärkereicher Mahlzeit (WADA et al. 1983).

Die Ausscheidung des Chromanteils, der vom Jejunum nicht absorbiert wurde, erfolgt weitestgehend mit den Fäzes (BIESALSKI et al. 1999, STOECKER 2001). Geringe Mengen gehen zudem über Haare, Schweiß und Galle verloren (BIESALSKI et al. 1999).

2.6.6 Weitere Chromverluste

Ein Chrommangel durch einen übermäßigen Chromverlust wurde bei verschiedenen Faktoren wie Traumata, akute Überanstrengung, Laktation und bei kohlenhydratreicher Ernährung beobachtet (ANDERSON 1994, LUKASKI et al. 1996).

2.6.7 Toxizität

Cr^{3+} hat eine relativ geringe Toxizität vorzuweisen. Erst bei sehr hohen Cr^{3+} Zugaben, Katzen tolerieren zum Beispiel 1000mg Cr^{3+} /d und Nagetiere zeigten keine negativen Effekte bei Gaben von 100mg pro kg (WHO 1973), wirkt Chrom im Magen - Darmtrakt reizend auf die Schleimhaut (LUKASKI 1999).

2.6.8 Chromgehalt in Futtermitteln

Eine Übersicht über den Chromgehalt in verschiedenen Futtermitteln liefert Tabelle 1.

Tabelle 1: Chromgehalt in verschiedenen Futtermitteln (entnommen VERVUERT et al. 2005)

Futtermittel	Chromgehalt [mg/kg]
Getreide	0,10 bis 20
Hafer	0,49
Gerste	0,35
Weizen	0,64
Roggen	0,60
Fleisch	0,15
Milch	0,015
Eier	0,005 bis 0,002
Heu	0,10 bis 10
Wasser	0,001 bis 100
Mineralien	60 bis 500

2.6.9 Biologische Wirksamkeit

SCHWARZ und MERZ (1959) konnten die Wirksamkeit von exogen zugeführtem Chrom in Hinblick auf die Verbesserung der Insulinwirksamkeit nachweisen. Ratten, welche an Lebernekrosen und einer Glucoseintoleranz erkrankt waren, zeigten nach Zugaben chromhaltiger Nahrungsmittel eine deutliche Verbesserung ihrer Symptome, das führte zu der Bezeichnung GTF-Glucosetoleranzfaktor. Des Weiteren traten bei parenteral ernährten Patienten diabetesähnliche Beschwerden, insbesondere eine Glucoseintoleranz auf, welche nicht mit Insulin, wohl aber mit Gaben von anorganischem Chrom behoben werden konnte (JEEJEEBHOY 1977, FREUND 1979). Auch bei hyperglycämischen Patienten konnte der Plasmaglucosespiegel normalisiert werden (ANDERSON 1983). Die Wirkung des Chroms scheint demnach in einer Potenzierung der Wirkung des Insulins zu liegen (ANDERSON 1983). Der Durchbruch gelang WADA et al. (1980) mit der Entdeckung und Isolation des low-molecular-weight chrombinding substance (LMWCr), welche heute als Chromodulin bezeichnet wird. Es wird angenommen, dass Cr^{3+} zusammen mit 4 verschiedenen Aminosäuren (Glutaminsäure, Cystein und Glycin, Aspartat) einen Komplex bildet, der als Glucosetoleranzfaktor (GTF) bezeichnet wird.

Das Gewicht liegt bei nur 1500 Dalton, woraufhin die Bezeichnung low - molecular -weight chrombinding substance entstand (YAMOTO et al. 1996, DAVIES und VINCENT 1997).

Der Glucosetoleranzfaktor galt lange Zeit als die biologisch aktive Form von Cr^{3+} im Organismus. GTF, so wurde vermutet, lagert sich an den Insulinrezeptor an und verbessert dadurch die Bindung von Insulin und Rezeptor (STEEL et al. 1977, MERTZ 1993, BUNTING et al. 1994). Die Empfindlichkeit der Körperzellen auf Insulin wird dadurch erhöht. Als Folge davon wird

weniger Insulin für die Glucoseverwertung in der Zelle benötigt (ANDERSON 1995).

Nach heutigem Kenntnisstand ist die eigentlich biologisch aktive Form des Cr^{3+} jedoch das Chromodulin, welches auch als low-molecular-weight-chrombinding-substance (LMWCR) bekannt ist. Chromodulin ist für die Aktivierung der Tyrosinkinase - Aktivität des Insulinrezeptors verantwortlich (DAVIES et al. 1996, VINCENT 2000, BIESALSKI et al. 2002). Auf diese Weise steuert Chromodulin die Bindung von Insulin an den insulinspezifischen Rezeptor. In isolierten Rattenadipozyten konnte durch die Zugabe von Chromodulin eine 8fache Steigerung der Tyrosinkinase-Aktivität erreicht werden (VINCENT 2000).

Schließlich wird so die Insulinwirkung an den Zielzellen potenziert und die Aufnahme von Glukose und Aminosäuren in Leber-, Muskel- und Fettzellen beschleunigt, wodurch die zirkulierende Menge an Glucose, Insulin sowie Glucagon im Serum nach Glucosebelastung vermindert wird. Infolge des vermehrten Einstroms von Glucose und Aminosäuren in Leber, Muskulatur und Fettgewebe wird die intrazelluläre Glykogen-, Protein- und Triglyzeridsynthese stimuliert (BIESALSKI et al. 1999).

In-vitro Untersuchungen in Fettzellen haben ergeben, dass LMWCr in einer „Postrezeptor-Rolle“ die Wirkung von Insulin, beispielsweise durch externe Bindung an den Insulinrezeptor, auf Aktivierung und Umwandlung von Glucose in Kohlendioxid und Fett steigerte (VINCENT 1994, YAMAMOTO 1989).

Um zu erklären, wie LMWCr tatsächlich eine steigernde biologische Wirkung von Insulin bewirkt, hat man sich auf die Signalkaskade des Insulin-Rezeptor-Komplexes konzentriert. Da die Wirkung von Insulin auf eine Kaskade von Phosphorylierungen und Dephosphorylierungen beruht, wird angenommen, dass LMWCr an einer Regulierung der Phosphorylierungsschritte beteiligt ist. Erste Ergebnisse in isolierten Lipozyten deuteten auf eine mögliche Aktivierung einer membranständigen Phosphotyrosine Phosphatase (PTP1B) durch LMWCr hin (DAVIES 1996). Dieses Ergebnis widerspricht jedoch den Erkenntnissen, dass PTP1B den Insulinrezeptor dephosphoryliert und inaktiviert und somit die Insulinwirkung herunterreguliert (BANDY-PADHYAY 1997; KENNER 1996; WALCHI 2000; ELCHEBLY 1999; KLAMAN 2000; ZINKER 2002). Weitere Untersuchungen widerlegten, dass LMWCr PTP1B aktiviert, vielmehr ist seine Funktion in der Verstärkung der Insulinrezeptor-Kinase zu suchen (HONG 2005).

Eine deutliche Verbesserung der Glucosebereitstellung und Insulinwirkung durch eine Verstärkung der Insulinrezeptorwirkung wurde bei Tieren, die mit Chrompicolinat behandelt wurden, festgestellt (WANG 2006). Hierbei wurde in der Skelettmuskulatur von übergewichtigen insulinresistenten JCR:LA-cp Ratten sowohl eine vermehrte Phosphorylierung bzw. Aktivität von Insulinrezeptor-Substrate (IRS)-1 und verminderte „protein tyrosin phosphatase 1B“ (PTP1B) Aktivität gefunden (WANG 2006). Als Grundlage dieser biochemischen Prozesse zeigt ein Modell eine vermehrte intrazelluläre Aufnahme von Chrom nach Bindung von Insulin. Danach kommt es zur Bildung von Chromodulin, welches durch die Bindung an den Insulinrezeptor die verschiedenen Signalkaskaden verstärkt (VINCENT 2000).

Weiter weist Chrom einen Einfluss auf das Lipidprofil-Triglyzeride, LDL und HDL des Menschen auf. Chrom ist in der Lage, die Lipidkonzentration des Gesamt- und LDL-Cholesterins sowie die Triglyceridwerte zu senken. Zugleich lässt Chrom das HDL-Cholesterin im Serum ansteigen (MOORADIAN et al. 1994, STOECKER 2001, BIESALSKI et al. 2002, ELMADFA und LEITZMANN 2004, SCHMIDT et al. 2004). Somit verhindert Chrom die Bildung arteriosklerotischer Plaques - Ablagerungen von Blutfetten, Thromben, Bindegewebe und Kalk in den Gefäßwänden (BIESALSKI et al. 2002, SCHMIDT et al. 2004).

2.6.10 Chrombedarf

In der Literatur finden sich für den Menschen Bedarfsempfehlungen für eine tägliche Chromaufnahme. Einen Überblick gibt Tabelle 2. Für das Pferd gibt es zurzeit keine Bedarfsempfehlung (GEH 1994).

Tabelle 2: Bedarfsempfehlungen für eine tägliche Chromaufnahme beim Menschen

Bedarf	[µg/d]
Deutschsprachige Länder	
DGE - Empfehlung	30 bis 100
Männlich	35
Weiblich	25

2.6.11 Studien über die Wirkung von Chrom im Organismus bei Mensch und Pferd

2.6.11.1 Chromsupplementation beim Menschen

Einen Überblick über die Chromsupplementation beim Menschen findet sich in Tabelle 3.

Einfluss auf Diabetes mellitus

ANDERSON et al. (1997) erreichten beim Menschen durch die tägliche Gabe von 180-1000 µg Chrom eine deutliche Verbesserung der Glucosetoleranz, erniedrigte Nüchtern glukosewerte, erniedrigte Insulinspiegel, gepaart mit niedrigeren Glucose Peaks, sowie eine Erniedrigung im Gesamtcholesterinspiegel und verbesserte HbA1 Werte. Weitere Untersuchungen und Versuche zu dem Einfluss von Chrom auf den Glucosestoffwechsel zeigten, dass viele Patienten mit erhöhtem Blutzucker, einer beginnenden Glucoseintoleranz bis hin zu einem manifesten Diabetes mellitus von einer Chromempfehlung profitierten (ANDERSON1998).

Eine Kontrollstudie zeigte, dass eine zusätzliche Therapie mit Chrompicolinat und Biotin bei Typ 2 Diabetikern sowohl die Werte des OGTT als auch der Blutfette verbesserte (SINGER 2006). Zusammen mit einer Sulfonylharnstofftherapie zeigte sich sowohl eine verbesserte Insulinsensitivität als auch ein positiver Einfluss auf die Körpermasse (MARTIN 2006). Bei insulin-

resistenten Ratten war auch ein positiver Einfluss auf die Gefäßfunktion und das Nierengewebe bei einer Chromtherapie zu erkennen (PROCTOR 2007). Bei Ratten wurde festgestellt, dass ein erhöhter Blutdruck, ausgelöst durch eine zuckerreiche Diät, mit Chrom wieder gesenkt werden kann (KOPLIAS 2007).

Einfluss Gewichtsreduktion

Chrom wird eine gewichtsreduzierende Wirkung zugesprochen - im Vergleich zu sportlicher Aktivität ist dieser Effekt jedoch gering (HAHN et al. 2001).

So ergab eine Doppelblindstudie von KAATS et al. (1996) mit 154 Erwachsenen, die bei kalorienreduzierter Diät über einen Zeitraum von 10 Wochen 200 bzw. 400 µg Chrompikolinat pro Tag erhielten, einen erhöhten Anteil an fettfreier Körpermasse, insbesondere an Muskelmasse, sowie einen Verlust an Körperfett.

Tabelle 3: Chromsupplementation beim Menschen

Referenz	Subjekt	Cr - Supplementat ion [mcrg/d]	Bewegung	Dauer [Wochen]	Methode	Ergebnis
Evans	10 männlich	CrPic(200)	Restriktiv	5	Anthropometrie	FFM +
Evans	31 American Football Spieler	CrPic(200)	Restriktiv	6	Anthropometrie	FFM +; Körperfettmessung [%] -
Hasten	37 männlich, 27 weiblich	CrPic(200)	Restriktiv	12	Anthropometrie	Umfang +
Clancy	36 American Football Spieler	CrPic(200)	Restriktiv	9	Densitometrie	kein Effekt
Trent	95 männlich und weiblich	CrPic(200)	Aerobic	16	Anthropometrie	kein Effekt
Lukaski	36 männlich	CrPic/ CrCl3 170-180	Restriktiv	8	DXA	kein Effekt
Hallmark	16 männlich	CrPic(200)	Restriktiv	12	Densitometrie	kein Effekt
Grant	43 überge- wichtig weiblich	CrPic/ CrNic up to 200	Aerobic	9	Densitometrie	CrPic ohne Bewegung KM + CrNic mit Bewegung KM
Kaats	154 Erwach- sene	CrPic(200/ 400)	sitzende Tätigkeit	10	Densitometrie	ansteigend BCI
Kaats	122 Erwach- sene	CrPic(400)	Variabel	9	DXA	Gewicht + Körperfettmessung [%] -
Campell	18 ältere männliche	CrPic(1000)	Restriktiv	12	Densitometrie	kein Effekt

Chrom als Zusatzpräparat ist besonders unter Sportlern wegen seiner Eigenschaft, den Körperfettanteil zu senken und die Muskelmasse zu steigern, beliebt. Am populärsten ist Chrompicolinat, welches wegen seiner Resorptionsrate von 1,2 % dem Chromchlorid mit einer Resorptionsrate von 0,4 % vorgezogen wird.

In einer Doppelblindstudie von PASMANN et al. (1997) mit 33 übergewichtigen Frauen, die bei hypokalorischer Ernährung über einen Zeitraum von 12 Monaten täglich 200 µg Chrompicolinat aufnahmen, konnten hingegen keine Effekte auf das Körpergewicht beziehungsweise auf die Körperfettzusammensetzung festgestellt werden.

2.6.11.2 Chromsupplementation beim Pferd

Chromsupplementation beim gesunden Pferd

Eine deutlich schnellere Absenkung des Plasmaglucosepiegels im intravenösen Glucosetoleranztest (2g Glucose/ kgKM) bei gesunden Jährlingen, konnte durch eine Chromzulage von über insgesamt 112 Tage erreicht werden (OTT und KIVIPELTO 1999)

Die Chromsupplementation lag bei 2,6 - 4,2 µg Cr/kg KM in der am niedrigsten dosiertesten Gruppe und bei 10 - 17µg Cr/kg KM in der am höchsten dosiertesten Gruppe. Zusätzlich gab es eine Kontrollgruppe, welche keine Chromzugabe erhielt. Eine schnellere Absenkung des Plasmaglucosepiegels nach definierter Glucosegabe (2g Glucose/ kgKM), wurde bei denjenigen Jährlingen beobachtet, welche eine Chromsupplementation erfahren hatten. Der Effekt einer Chromsupplementierung auf die Glucosereaktion scheint demnach dosisabhängig zu sein, da diejenigen Jährlinge mit der chromreichsten Diät die schnellste Absenkung ihres Plasmaglucosepiegels erzielten.

Hingegen konnten OTT und KIVIPELTO (1999) in ihrer Studie keine Beeinflussung der Insulinsensitivität und der körperlichen Entwicklung durch die Supplementation mit Chromtrypicolinat feststellen. Demgegenüber steht eine Studie von RALSTON (2003), in der die Gabe von 20 µg/kg KM Cr- L-methionine die Ausschüttung von Insulin um 30-57% verringerte, ohne dass eine Änderung der Glucose im Plasma auftrat.

GENTRY et al. (1999) konnten ebenfalls keinen positiven Effekt von der Zugabe von Chrompicolinat auf den Glucosestoffwechsel, die Konzentrationen an nichtveresterten Fettsäuren sowie Insulin, Prolactin und Wachstumshormonen darstellen. Die zwei Versuchsgruppen (ausschließlich gesunde Pferde),- eine chromsupplementierte (5 mg Chrom/d pro Pferd) und eine Kontrollgruppe unterschieden sich in dem gewählten Beobachtungszeitraum von 36 Tagen nicht signifikant hinsichtlich der gemessenen Konzentrationen an Glucose, Insulin, Prolactin, Wachstumshormonen und nichtveresterten Fettsäuren. Die Chromgruppe wies allerdings einen nicht signifikanten positiven Effekt der Insulinreaktion sowie eine höhere Lymphozytenproliferation auf. Diese erhöhte Lymphozytenproliferation führte aber nicht zu einer verbesserten Immunreaktion bei einer Infektion mit Influenzaviren.

VERVUERT et al. (2005) untersuchten einen möglichen Effekt bei arbeitenden Pferden durch die Zugabe von Chromhefe. Während des 21-tägigen Versuchszeitraums erhielten die Pferde ein Hefeprodukt ohne Chromsupplementation, 4,15 mg Cr/d oder 8,3 mg Cr/d. Die Versuchspferde absolvierten täglich ein identisches Bewegungsprogramm auf dem Laufband. In der chromsupplementierten Gruppe wurden die höchsten Laktatwerte und Plasmaglucosepeaks gemessen, sowie die höchste Herzfrequenz am Ende des jeweiligen Arbeitpensums beobachtet. Auch GENTRY et al. (1999) konnten erhöhte Laktatwerte in der chromsupplementierten Gruppe nach der Arbeit darstellen. Die erhöhten Laktatwerte und die erhöhte Herzfrequenz spiegeln eine verminderte Leistungskapazität der chromsupplementierten Pferde wider. Als möglicher Mechanismus könnte eine Interaktion von Chrom und Eisen zugrunde liegen. Die hohen Glucosespiegel könnten in Zusammenhang mit dem gleichzeitig ansteigenden Cortisolspiegel während der Belastungsprobe stehen.

Demgegenüber wurden von PAGAN et al. (2003) erniedrigte Spiegel an Insulin, Cortisol und Glucose bei trainierten Vollblütern mit einer täglichen Dosis von ca. 9 µg/ kg KM pro Tag einer Chromhefe gemessen. Die chromsupplementierte Gruppe zeigte einen geringeren Glucoseanstieg eine Stunde nach der Fütterung. Des Weiteren wurde auch während der Belastung niedrigere Glucosekonzentrationen nach Cr.- Zugabe gemessen. Die Triglyceride stiegen in der Chromgruppe höher als in der Placebogruppe. PAGAN et al. (1993) schlossen hieraus eine durch die Chromsupplementation hervorgerufene verbesserte Wirkungsweise von Insulin. Demnach werden freie Fettsäuren, welche durch die ansteigende Belastung mobilisiert wurden, durch die Anwesenheit von Insulin nicht verwertet, sondern gelangen in die Leber, wo sie zu Triglyceriden resynthetisiert werden. Die Lactatspiegel in der Chromgruppe waren deutlich erniedrigt. Der dafür notwendige Mechanismus ist unbekannt.

Chromsupplementation bei Pferden mit Insulinresistenz

CARTMILL et al. (2005) untersuchten die Effekte einer Chrompropionatzugabe von ca. 8µg/ kg KM (Versuchszeitraum 30 Tage) auf mögliche Veränderungen der Insulinsensitivität bei Pferden mit Übergewicht, Hyperleptinämie, Hyperglycämie und Hyperinsulinämie. Es wurde keine Verbesserung der Insulinsensitivität nach Ende der Supplementation bei den untersuchten Pferden festgestellt. Eine Chromsupplementation bei gesunden Pferden hinsichtlich möglicher Effekte auf die Glucose- und Insulinreaktion hat demnach in der Vergangenheit zu unterschiedlichsten Ergebnissen geführt. Eine Untersuchung an erkrankten bzw. insulinresistenten Pferden wurde einzig durch CARTMILL et al. (2005) durchgeführt. Er konnte keine Verbesserung der Insulinsensitivität nachweisen.

3 Tiere, Material und Methoden

3.1 Versuchsziel

Ziel dieser Arbeit ist es, die Effekte einer Chromsupplementierung auf die glykämischen und insulinämischen Reaktionen bei Pferden und Ponies, welche am equinen metabolischen Syndrom erkrankt sind, in einer placebokontrollierten Studie zu untersuchen.

3.2 Versuchsübersicht

Der experimentelle Teil der Studie wurde im Zeitraum von Oktober 2006 bis Oktober 2007 durchgeführt. Der Versuch gliederte sich in einen Vor- und einen Hauptversuch, wobei der Vorversuch der Selektion der erkrankten Tiere galt.

3.3 Vorversuch

Es wurden 83 übergewichtige Pferde und Ponies, teilweise an Hufrehe erkrankt, auf eine mögliche Veränderung im Glucosestoffwechsel überprüft. Alle Probanden wurden gewogen und der BCS nach HENNEKE et al. (1983) erhoben (siehe Tabelle 4).

Es wurden ausschließlich Pferde und Ponies berücksichtigt, die einen BCS > 6 auf einer Skala von 1 - 9 nach HENNEKE et al. (1983) aufwiesen. Dabei steht der BCS Wert 1 für sehr dünn/mager, 9 hingegen für adipös. Die Probanden gehörten ausschließlich zum Praxisklientel der Pferdeklinik Iffezheim, Baden-Württemberg. Die Durchführung fand in den heimatlichen Ställen oder in der Klinik statt.

3.3.1 Durchführung Vorversuch

Die Fütterung der Versuchspferde wurde so standardisiert, dass die letzte Mahlzeit vor der zwölfstündigen Nüchternphase aus 0,5 kg Heu / 100 kg KM bestand. Nach dieser 12-stündigen Nüchternperiode wurde eine definierte Testmahlzeit von 1,5 g Stärke / kg KM verfüttert. Die Futteraufnahmezeit wurde protokolliert. Zur Überprüfung der Glucose im Plasma wurden unmittelbar vor der Fütterung, sowie ein, zwei und drei Stunden nach der Beendigung der Futteraufnahme, Blutproben durch Punktion der linken bzw. rechten Vena jugularis entnommen (siehe Tabelle 5), das Blut direkt in ein Lithium Heparin- Röhrchen der Firma Sarstedt (Füllgradvolumen 9 ml) verbracht und dann unmittelbar nach der Entnahme in einer transportablen Zentrifuge (Fa. Biodynamics Select - A - Fuge) bei 3000 Umdrehungen für 10 min zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde das Plasma in Eppendorf Reaktionsgefäße pipettiert und zunächst in einer Kühltasche mittels Kühlakkus bei ca. -5°C zwischengelagert. Die Proben wurden innerhalb von 5 Stunden analysiert.

Tabelle 4: Anzahl der Vorversuchspferde, Rassezugehörigkeit, Alter und BCS
(nach HENNEKE et al. 1983)

Anzahl der Pferde	Rasse	Alter in Jahren	BCS
14	Welsh Cob bzw. Welsh A	14,0 ± 3,74	7,54 ± 2,75
15	Shettlandpony	13,0 ± 3,61	7,43 ± 2,73
9	Haflinger	12,3 ± 3,51	7,72 ± 2,78
9	Deutsches Reitpony	14,6 ± 3,83	7,61 ± 2,76
2	Isländer	16,5 ± 4,06	6,75 ± 2,60
5	Fjord	17,2 ± 4,15	7,52 ± 2,74
1	Criollo	15,0	8,50
1	Tinker	15,0	7,50
1	Schwarzwälder	9,0	9,00
7	Quarter Horse	9,4 ± 3,07	7,73 ± 2,77
1	Lippizaner	20,0	6,00
4	Holsteiner/ Hannoveraner	18,2 ± 4,28	7,65 ± 2,76
3	Trakehner	14,3 ± 3,7	7,00 ± 2,65
2	Württembergischer	11,0 ± 3,35	7,50 ± 2,74
5	Pura Raza Espaniola	11,4 ± 3,37	7,81 ± 2,81
3	Araber	13,0 ± 3,61	7,32 ± 2,70
1	Knappstrupper	21,0	8,50

Tabelle 5: Blutprobenentnahmezeitpunkt und Parameter - Plasma Glucose

Zeitpunkt ppr (min)	Glucose
0	x
1h nach Futteraufnahme	x
2h nach Futteraufnahme	x
3h nach Futteraufnahme	x

3.4 Hauptversuch

3.4.1 Pferde / Ponies

Für den Hauptversuch wurden jene Ponies und Pferde ausgewählt, bei denen die Glucosewerte zwei bis drei Stunden nach einer stärkehaltigen Mahlzeit im Mittel bei $13,1 \pm 1,4$ mmol/l lagen. Es wurden 27 Probanden aus dem Probenkollektiv ausgewählt, welche sich in 19 Ponies und 8 Klein- bzw. Großpferde aufteilen ließen; einen Überblick gibt Tabelle 6.

Auswahlkriterien: Deutlich erhöhte Glucosewerte kurz nach definierter Stärkeaufnahme von 1,5 g Stärke /kg KM.

Die Haltungsbedingungen der Probanden sahen eine ausschließliche Heufütterung vor. Die Verabreichung der Chrom- bzw. Placebohefe erfolgte mittels eines Mischfutters je nach KM des Probanden in einer täglichen Dosierung von 80 g bei Kleinpferden und 150 g bei Pferden.

Von ursprünglich 83 Pferden und Ponies zeigten 42 Probanden einen deutlichen Anstieg der Blutglucose nach Aufnahme einer definierten Stärkemenge von 1,5 g Stärke/kg KM.

Von diesen 42 Probanden wurden 12 Probanden wegen nicht standartisierbaren Haltungsbedingungen und 3 wegen mangelnder Kooperativität der Pferde/Ponies vom Hauptversuch ausgeschlossen. Damit ergab sich eine Anzahl von 27 Probanden für den Hauptversuch. Adspektorisch zeigten alle 27 in die Hauptuntersuchung eingeschlossenen Pferde und Ponies typische Fettansammlungen im Bereich des Nackens, der Schulter und entlang der Wirbelsäule. Klinisch litten 22 unter einer chronischen Rehe; Polydipsie und Polyurie wurden bei 17 Tieren beobachtet. Zwei Tiere zeigten eine Leistungsinsuffizienz, ein Wallach fiel durch ein Präputialödem auf. Drei der Probanden zeigten keinerlei klinische Erscheinungen.

3.4.2 Haltung der Pferde und Ponies

Die Haltung der Probanden über die gesamte Versuchsdauer von ca. 28 ± 7 Tage erfolgte in einer mit Sägespänen eingestreuten Einzelbox. Außer an den Tagen der Blutprobenentnahme erhielten die Probanden 8-12 Stunden Auslauf auf Sandpaddocks. Zusätzlich wurden die Pferde / Ponies zwischen 30-60 min auf weichem Boden im Schritt an der Hand bewegt.

3.4.3 Fütterung der Versuchspferde und -ponies

Raufutter

Die Pferde und Ponies erhielten über die gesamte Versuchsdauer Heu in einer täglichen Menge von 1,5 kg/100 kg KM.

Mischfutter

Zur Untermischung der Chrom- bzw. der Placebohefe erhielten alle Versuchspferde und -ponies ein Mischfutter M1 in einer täglichen Menge von 80-150 g.

Versuchsfutter für den Stärketoleranztest

Am Tag der Blutentnahme erhielten alle Versuchspferde und -ponies nach einer zwölfstündigen Nüchternphase ein Mischfutter M2 in einer einmaligen Dosierung von 1,5 g Stärke / kg KM. Während der Blutentnahme wurde kein Heu gefüttert.

Tabelle 6: Alter, Geschlecht, Rasse, KM und Body Condition Score der Versuchspferde bei Versuchsbeginn

ID	Alter	Geschlecht	Rasse	KM (kg) bei Versuchsbeginn	BCS bei Versuchsbeginn
2	7	Stute	Welsh Cob	520	6,5
4	18	Wallach	Haflinger	535	7,5
5	20	Stute*	Lippizaner	580	6,0
7	9	Stute	Shetland Pony	154	7,5
8	8	Stute	Welsh A	350	6,5
11	11	Stute	Welsh A	242	7,5
12	10	Stute	Welsh Cob	556	7,0
17	13	Stute*	Dt. Reitpony	480	7,0
9	10	Stute*	Shetland Pony	217	8,2
32	21	Stute	Knappstrupper	575	8,5
23	11	Wallach*	Pura Raza Espaniola	480	7,5
34	14	Wallach	Haflinger	461	8,0
35	7	Wallach	Shetland Pony	245	7,0
40	15	Wallach	Criolo	521	8,5
41	21	Wallach	Welsh A	375	8,5
44	15	Wallach	Araber	475	7,5
45	10	Wallach	Haflinger	533	8,5
51	22	Wallach	Holsteiner	603	7,5
52	12	Wallach	Quarter Horse	596	9,0
53	13	Stute	Paint Horse	546	9,0
57	18	Stute	Fjord	466	8,5
58	9	Wallach	Dt. Reitpony	420	8,0
59	22	Stute	Welsh A	236	8,0
60	13	Wallach	Shetland Pony	209	7,0
64	20	Stute	Welsh A	265	7,0
65	13	Stute	Quarter Horse	400	7,5
66	12	Wallach*	Fjord	423	7,0

* Proband ohne Hufrehe

3.4.4 Chromsupplementation

Aus den 27 Probanden wurden nach dem Zufallsprinzip 15 Probanden ausgewählt, welche eine Chromsupplementierung über 28 ± 7 Tage erhielten, 12 Probanden dienten der Kontrolle und erhielten eine Kontrollhefe ohne Chromzulage (= Placebo) (siehe Tabelle 7 und 8).

Die für den Versuch verwendete Chromhefe enthielt Chrom in einer Dosierung von 2000 mg/kg. Die tägliche Chromdosierung für die am Hauptversuch teilnehmenden Pferde und Ponies betrug $25 \mu\text{g}/\text{kg KM}$. Die Chromsupplementation erfolgte über 28 ± 7 Tage immer morgens mit dem Mischfutter.

Die Placebotiere erhielten analog eine Hefezulage ohne Chrom in einer täglichen Dosierung von $25 \mu\text{g}/\text{kg KM}$ über 28 ± 7 Tage.

Tabelle 7: Anzahl der Pferde, Rasse, Alter und BCS der chromsupplementierten Gruppe

Anzahl der Pferde	Rasse	Alter	BCS
5	Welsh	$14,8 \pm 3,85$	$7,20 \pm 2,68$
2	Shettland Pony	$11,0 \pm 3,32$	$7,25 \pm 2,69$
2	Haflinger	$18,0 \pm 4,24$	$7,50 \pm 2,74$
2	Dt. Reitpony	$11,0 \pm 3,32$	$7,50 \pm 2,74$
2	Fjord	$18,0 \pm 4,24$	$7,50 \pm 2,74$
1	Lippizaner	20,0	6,00
1	Quarterhorse	13,0	7,50

Tabelle 8: Anzahl der Pferde, Rasse, Alter und BCS der placebosupplementierten Gruppe

Anzahl der Pferde	Rasse	Alter	BCS
2	Shettland Pony	$8,5 \pm 2,92$	$7,75 \pm 2,78$
2	Welsh	$14,0 \pm 3,74$	$7,50 \pm 2,70$
2	Quarterhorse	$12,5 \pm 3,54$	$9,00 \pm 3$
1	Holsteiner	22,0	7,50
1	Knappstrupper	21,0	8,50
1	Pura Raza Espaniola	11,0	7,50
1	Haflinger	10,0	8,50
1	Araber	15,0	7,50
1	Criollo	15,0	8,50

3.4.5 Stärketoleranztest

Am ersten Versuchstag wurde bei den Versuchspferden ein Stärketoleranztest durchgeführt. Dazu wurde den Probanden nach einer zwölfstündigen Nüchterungsperiode und nach vorheriger Rasur und Desinfektion mit alkoholischer Lösung, ein Venenverweilkatheter (Cavafix, Certo, Fa. Braun Melsungen) in die Vena jugularis externa geschoben und fixiert. Eine Verlängerung (Lectro-Cath, Fa. Vygon) mit einem Zweiwegehahn (Absperrhahn Luer-Lock, Fa. Vygon) wurde am Katheter befestigt.

Vor der Fütterung mit 1,5 g Stärke / kg KM wurde die erste Blutprobe mittels einer Lithiumheparin Monovette (Fa. Sarstedt, Füllungsvolumen 9 ml) entnommen. Die Heidelberger Verlängerung wurde nach jeder Blutprobenentnahme mit isotonischer NaCl-Lösung gespült.

Nach Beendigung der Futteraufnahme erfolgten weitere Blutprobenentnahmen alle 30 Minuten postprandial über 5 Stunden; ab der 300. Minute erfolgten die letzten beiden Blutentnahmen in sechzigminütigem Abstand.

Bei der Blutabnahme wurde jeweils eine Monovette verwendet, die unmittelbar nach der Entnahme in einer transportablen Zentrifuge (Hermle Z 300, Fa. Hermle Labortechnik, Dt.) mit 3000 Umdrehungen für 10 Minuten zentrifugiert wurde. Das Plasma wurde in 3 Eppendorf Reaktionsgefäße pipettiert und zunächst bei ca. 5°C zwischengelagert. Die weitere Aufbewahrung bis zur Analyse erfolgte im Gefrierschrank bei -18°C.

Die Pferde verblieben über die gesamte Versuchsdauer in ihrer Box. Nach der letzten Blutentnahme wurde der Venenverweilkatheter entfernt und ein Druckverband für die Dauer weiterer 30 Minuten angebracht. Nach 28 ± 7 Tage erfolgte ein weiterer Stärketoleranztest zur erneuten Bestimmung der Glucose- und Insulinreaktion mit identischem Vorgehen.

4 Untersuchungsmethoden

4.1 Körpergewicht vor und nach Supplementierung

Das Körpergewicht aller Pferde und Ponies wurde sowohl vor als auch nach der Supplementierung dokumentiert. Für die Ermittlung des Körpergewichts stand eine mobile Pferdewaage der Firma Tru Test MP Series 600 (Messbereich 0,5 - 1500 kg) sowie eine stationäre Waage der Pferdeklinik Iffezheim (Messbereich 0,5-1200 kg) zur Verfügung.

4.2 Erhebung des BCS HENNEKE et al. (1983)

Der Body Condition Score (BCS) nach HENNEKE et al. (1983) wurde bei allen Probanden sowohl vor als auch nach der Supplementierung dokumentiert. Dabei wurden die Probanden bezüglich ihres Ernährungszustandes auf einer Skala von 0 - 9 bewertet:

- **BCS 0 - 2:** Extrem dünn: Starkes Hervortreten von Widerrist, Rückrat, Kruppe und Rippen. Von hinten gesehen fallen die Seiten deutlich ein und es ist keine Muskulatur erkennbar.
- **BCS 3 - 4:** Dünn: Dünne Pferde weisen Muskulatur auf, jedoch treten Rückrat, Kruppe und Rippen deutlich hervor. Von hinten betrachtet ergibt die Hinterhand ein sehr schlankes, aber noch normales Bild ab.
- **BCS 5 - 6:** Normal: Bei normalgewichtigen Pferden können die Rippen zwar erfühlt, jedoch im Ruhestand nicht gesehen werden. Der Widerrist ist mit Muskulatur gestärkt, und je nach Körperfett oder Muskulatur ist der Hals stark und der Rücken zur Kruppe gerundet. Von hinten gesehen trägt entweder Fett oder Muskulatur zur Rundung der Seiten bei.
- **BCS 7 - 8:** Dick: Die Rippen sind, wenn überhaupt, nur schwer zu erspüren. Der Anteil an Körperfett kann den Anteil an Muskulatur überdecken.
- **BCS 9:** Extrem dick: Die Rippen sind nicht zu erspüren an der Kruppe, Mähnenkamm, Schulterbereich. Bei Hengsten und Wallachen finden sich Fettdepots häufig vor dem Präputium, bei Stuten vor dem Euter.

4.3 Untersuchungsmethoden der Blutproben im Vorversuch

Die Glucose im Plasma wurde mit Hilfe eines Trockenchemiegerätes, dem Vetest 8008 der Firma Idexx, ermittelt.

Testprinzip:

Unter Trockenchemie ist der Ablauf chemischer Reaktionen zu verstehen, deren Reagenzien vor Reaktionsbeginn in trockener, fester bzw. an Festkörper gebundener Form vorliegen.

Das mit einer Serum-, Plasma- oder Blutprobe unmittelbar vor der Messung auf ein Testplättchen aufbrachte Wasser hydratisiert die Reagenzzone und aktiviert damit die Reagenzien.

Über ein oder mehrere Reaktionsschritte entsteht eine Farbreaktion, deren Intensität proportional der Analysenkonzentration respektive Enzymaktivität der Probe ist.

Gemessen wird die Farbreaktion mit reflektionsphotometrischer Technik bei definierter Wellenlänge. Das hier beschriebene Analysegerät basiert auf der Methode der Mehrschichtenfilmtechnik des Ektachemsystems (BENT und HAMBITZER, 1987).

Ein Probenpipettor dosiert die für die Analyse notwendigen Probenfraktionen selbstständig auf die Testplättchen. Die Reaktionen laufen in einem thermostatisierten Rotor bei 37 °C ab.

Die reflektionsphotometrische Messung erfolgt bei definierten Wellenlängen, welche Lichtemissionsdioden ausstrahlen respektive durch Filterung des Lichtes einer Halogenlampe erzeugt werden. Die Glucosekonzentration wird mittels der Glucoseoxidase - POD Reaktion gemessen (s. Analyse im Hauptversuch); Referenzwert für Glucose 3,5 bis 6/ 7,7 mmol/l.

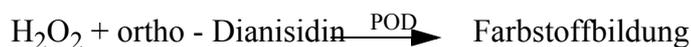
4.4 Untersuchungsmethode zur Glucosebestimmung im Hauptversuch

Die Analyse der Glucosekonzentration im Plasma erfolgte mittels enzymatischem colorimetrischem Test nach der GOD - Methode. Dazu wurden die Plasmaproben zunächst mit Perchlorsäure deproteinisiert und abzentrifugiert. Anschließend wurde ein Reaktionsansatz, bestehend aus Phosphatpuffer nach SÖRENSEN 1907, den Enzymen GOD (Glucoseoxidase, Fa. Fluka) und POD (Sigma Peroxidase, Fa. Sigma - Aldrich) sowie dem Chromogen ortho - Dianisidin (Sigma o - Dianisidinedihydrochloride, Fa. Sigma - Aldrich) hergestellt. Jede Probe wurde mit dem Reaktionsansatz versetzt und 90 Minuten inkubiert.

Dabei wird die enthaltene Glucose durch die Glucoseoxidase zu Gluconat und Wasserstoffperoxid umgesetzt.



In einer nachfolgenden, durch die Peroxidase katalysierten Indikatorreaktion kommt es dann zur Farbstoffbildung.



Anschließend erfolgte die photometrische Bestimmung der Extinktion in einem Spektralphotometer (Spektralphotometer LS 500, Fa. Dr. Lange) bei 530 nm. Da sich die gemessenen Extinktionswerte proportional zur Glucosekonzentration verhalten, konnte mit Hilfe einer Kalibrationskurve auf die Konzentration der Plasmagluose geschlossen werden.

4.5 Untersuchungsmethode zur Bestimmung von Insulin im Hauptversuch

Die quantitative Insulinbestimmung im Plasma erfolgte im Festphasen - Radioimmunoassay (Insulin- RIA, Coat - A- Count (125I), Fa. DPC Biermann GmbH). Bei diesem Test wird mit Jod¹²⁵ markiertem Insulin gearbeitet, das in mit Insulin-Antikörper beschichteten Polypropylenröhrchen mit dem Insulin im Proben Serum um die Antikörperbindungsstelle reagiert. Nach einer Inkubationszeit von 18 - 24 Stunden bei Raumtemperatur (15 - 28°C) werden die Probenröhrchen vollständig dekantiert und eine Minute im Gamma- Counter (1272 Clinigamma, Fa. LKB) die Zerfälle des gebundenen Insulins gezählt. Mit Hilfe einer Eichreihe kann aufgrund der gemessenen Strahlung des gebundenen Jod¹²⁵ - markierten Insulins auf die Konzentration des Probeninsulins geschlossen werden. Der Messbereich dieses Testes liegt zwischen 5 und 350 µU/ ml und wurde von REIMERS et al. (1982) für das Pferd validiert.

4.6 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Versuchsergebnisse wurde mit Hilfe des Statistikprogramms Statistica sowie den Statistikfunktionen von Excel 7.0 durchgeführt. Folgende statistische Methoden wurden eingesetzt:

- Bestimmung der Mittelwerte bei der Zusammenfassung von Einzelwerten
- Berechnung der Standardabweichung als Maß der Streuung
- Trapezoide Berechnung der Glucose- und Insulinflächen (x = Zeitpunkt, y = Glucose bzw. Insulinkonzentration)
- Ein - bis zweifaktorielle Varianzanalyse für wiederholte Messungen (Faktor : Zeit und Behandlung) für den Vergleich der Varianz der Mittelwerte
- Least Significant Difference Test zur Ermittlung der Grenzdifferenz der Mittelwerte (Faktor : Zeit und Behandlung)
- t - Test für unabhängige Stichproben
- Pearson -Korrelationsanalyse, um den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen Insulin und Glucose im Plasma auszudrücken

Die Ergebnisse werden, soweit nicht anders vermerkt, als Mittelwerte (MW) und Standardabweichung (SD) angegeben. Die Grenze für signifikante Unterschiede liegt bei $p < 0,05$. In Tabellen werden in dieser Weise statistisch abzusichernde Ergebnisse mit Buchstaben gekennzeichnet. Die Begriffe Pferd und Ponie werden zum Teil synonym verwendet. Die Darstellung der Ergebnisse erfolgt zum Teil als Abbildung der mittleren Kurvenverläufe von Glucose und Insulin, wobei dabei zur Erhaltung der Übersichtlichkeit auf die Darstellung der Standardabweichung verzichtet wurde. Die Mittelwerte der Kurven (Glucose und Insulin) werden mit den Standardabweichungen tabellarisch gesondert dargestellt.

5 Ergebnisse

5.1 Vorversuch

Es wurden insgesamt 80 Pferde und Ponies einem Stärketoleranztest unterzogen, um eventuelle Abweichungen im Glucosestoffwechsel zu überprüfen (siehe Tabelle 9).

5.1.1 Glucosekonzentration im Plasma

Die Glucosekonzentrationen nach 12-stündigem Fasten bewegte sich bei allen Pferden in einem engen Bereich von $6,8 \pm 0,8$ mmol/l (HV) bzw. $6,5 \pm 1,1$ mmol/l (AG). Nach der Fütterung stieg der Plasma Glucosespiegel signifikant bei allen Pferden an, wobei die Tiere, welche für den Hauptversuch ausgewählt wurden, deutlich höhere Glucosewerte im Unterschied zu den ausgeschiedenen Pferden aufwiesen (siehe Tabelle 9). Die mittleren maximalen Glucosewerte lagen bei den für den Hauptversuch ausgewählten Pferden bei $13,1 \pm 1,4$ mmol/l. Das Pferd mit der ID 32 zeigte den deutlichsten Glucose-Peak von 16,2 mmol/l (siehe Tabelle 10).

Die Pferde 32 und 35 erreichten den maximalen Glucosewert erst nach 180 min postprandial, während alle übrigen Probanden bereits nach 120 min postprandial die maximalen Glucosewerte aufwiesen (siehe Tabelle 10). Von den für den Hauptversuch ausgewählten Pferden erreichte keines der Pferde, 3 Stunden nach definierter Stärkeaufnahme, das Ausgangsniveau.

Tabelle 9: Plasma Glucosekonzentration der 27 Hauptversuchspferde (HV) in (mmol/l, MW \pm SD) und Plasma Glucosekonzentration (mmol/l, MW \pm SD) der ausgeschiedenen Pferde (AG) nach definierter Stärkeaufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM bis 180 min postprandial.

	Nüchternwerte	60 min ppr.	120 min ppr.	180 min ppr.	Δ max-basal
HV (N = 27)	$6,8 \pm 0,8^a$	$11,1 \pm 1,5^b$	$13,1 \pm 1,4^c$	$11,5 \pm 1,5^b$	$6,3 \pm 1,26^a$
AG (N = 53)	$6,5 \pm 1,1^a$	$9,0 \pm 1,6^c$	$10,4 \pm 2,2^b$	$9,7 \pm 2,2^c$	$4,1 \pm 1,95^b$

MW mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$

HV = Hauptversuchspferde

AG = ausgeschiedene Pferde

Tabelle 10: ID, Plasma Glucosepeak (mmol/l), Zeit des Glucosepeak (min ppr.) der 27 ausgewählten Hauptversuchsprobanden nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM

ID	Glucose - Peak (mmol/l)	Zeit (min ppr.)
2	11,2	120
4	10,9	120
5	13,7	120
7	13,0	120
8	13,5	120
11	11,8	120
12	13,6	120
17	11,2	120
31	11,9	120
32	16,2	180
33	14,2	120
34	13,5	120
35	11,2	180
40	14,2	120
41	15,4	120
44	13,2	120
45	13,8	120
51	11,9	120
52	14,8	120
53	13,6	120
57	12,0	120
58	12,7	120
59	15,5	120
60	11,0	120
64	12,5	120
65	13,7	120
66	13,5	120
MW ± SD	13,1 ± 1,4	115,6

5.2 Hauptversuch

5.2.1 Körpergewichtsentwicklung

Vor der mehrwöchigen Supplementation wiesen die Pferde und Ponies der chromsupplementierten Gruppe ein mittleres Körpergewicht von 390 ± 140 kg auf; die Tiere der Placebogruppe lagen bei einem mittleren Körpergewicht von 462 ± 130 kg (siehe Tabelle 11).

Sowohl die chromsupplementierte Gruppe als auch die Placebogruppe zeigten einen Gewichtsverlust über die vierwöchige Versuchszeit (siehe Tabelle 11). Dabei wurde ein signifikanter Gewichtsverlust bei der chromsupplementierten Gruppe von $3,8 \pm 4,3$ % ($p < 0,05$) und ein ebenfalls signifikanter Gewichtsverlust bei der Placebogruppe von $2,1 \pm 3,2$ % ($p < 0,05$) verzeichnet.

Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen konnten nicht mit $p < 0,05$ abgesichert werden.

Tabelle 11: Körpergewicht (kg, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) und Differenz (kg, %) vor und nach Behandlung

	KM vor Behandlung (kg)	KM nach Behandlung (kg)	Differenz (kg)	Gewichtsverlust in %
Placebo	462 ± 130^a	449 ± 121^b	$12,3 \pm 13,7$	$2,1 \pm 3,2$
Cr	390 ± 140^a	377 ± 141^b	$12,9 \pm 15,1$	$3,8 \pm 4,3$

MW mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile

5.2.2 Body Condition Score (BCS)

Zu Anfang und am Ende der Versuchszeit wurde der Ernährungszustand der Pferde mit dem Body Condition Score (BCS) nach HENNEKE et al. (1983) auf einer Skala von 1-9 beurteilt. Über den Beobachtungszeitraum von 4 Wochen konnte eine signifikante Veränderung bei MW und SD um $\pm 0,4$ auf der Bewertungsskala bei beiden Gruppen festgestellt werden (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: BCS (MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) und Differenz vor und nach Behandlung

	BCS vor Behandlung	BCS nach Behandlung
Placebo	$8,0 \pm 0,7^a$	$7,6 \pm 0,6^b$
Cr	$7,4 \pm 0,7^a$	$7,0 \pm 0,7^b$

MW mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$

5.2.3 Glucosekonzentration im Plasma vor Behandlungsbeginn

Die Glucosekonzentrationen nach 12-stündigem Fasten bewegten sich bei allen Pferden und Ponies in einem engen Bereich von $6,3 \pm 2,1$ mmol/l bei den chromsupplementierten Pferden und $5,5 \pm 0,9$ mmol/l bei den Placebopferden (s. Abbildung 1 und Tabelle 14). Nach der Verfütterung von 1,5 g Stärke/kg KM stieg der Plasma Glucosespiegel in beiden Gruppen signifikant an (siehe Tabelle 14).

Dabei erreichten die chromsupplementierten Pferde Maximalwerte von $12,4 \pm 2,6$ mmol /l in der Zeit von durchschnittlich $210 \pm 70,8$ min postprandial; die Placebotiere erreichten Maximalwerte von $11,8 \pm 2$ mmol/l in einer durchschnittlichen Zeit von $188 \pm 66,6$ min postprandial (siehe Tabelle 13). Nach 420 min lagen die Werte aller Versuchspferde weiterhin signifikant über dem Basalwert (siehe Tabelle 14). Zwischen den beiden Gruppen konnte vor Beginn der Behandlung kein signifikanter Unterschied im Verlauf der Plasma Glucosekonzentration festgestellt werden.

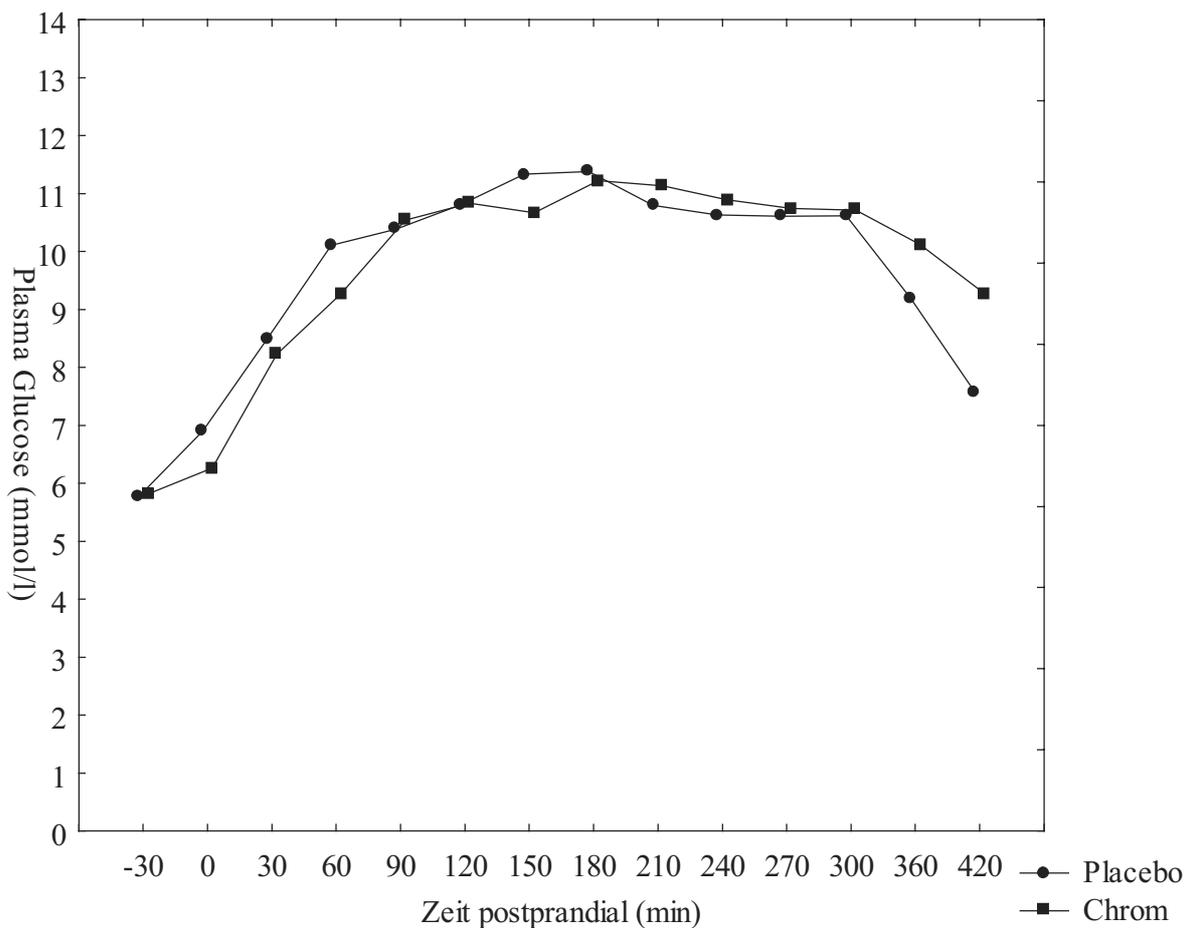


Abbildung 1: Verlauf der Plasma Glucosekonzentration (mmol/l, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM VOR Behandlungsbeginn, Behandlung $p = 0,91$, Zeit $p < 0,001$, Zeit x Behandlung $p = 0,275$

5.2.4 Glucosekonzentration im Plasma nach Behandlungsende

Die Nüchternwerte für die Glucosekonzentration im Plasma nach mehrwöchiger Behandlung betragen für die chromsupplementierte Gruppe $6,0 \pm 2,0$ mmol/l bzw. $5,6 \pm 0,5$ mmol/l für die Placebopferde (s. Abbildung 2 und Tabelle 14).

Nach der Verfütterung von 1,5 g Stärke/kg KM stieg der Plasma Glucosespiegel in beiden Gruppen signifikant an ($p < 0,05$).

Dabei erreichten die chromsupplementierten Pferde Maximalwerte von $11,0 \pm 3,0$ mmol/l in der Zeit von durchschnittlich $225 \pm 84,6$ min postprandial; die Placebotiere erreichten Maximalwerte von $10,7 \pm 2,6$ mmol/l in einer durchschnittlichen Zeit von $136 \pm 98,5$ min postprandial (siehe Tabelle 13). Das Ausgangsniveau wurde innerhalb der 420 minütigen Beobachtungsperiode nicht erreicht.

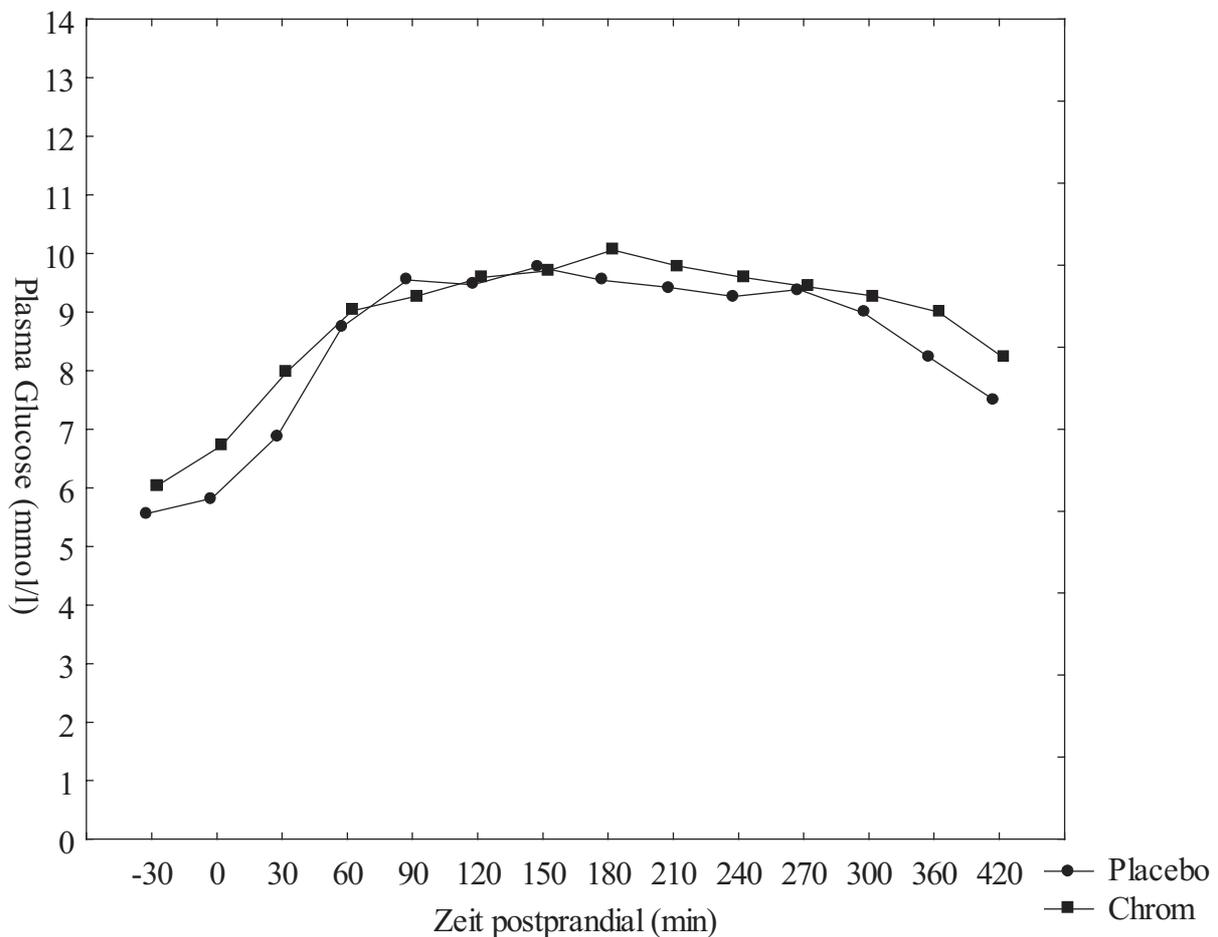


Abbildung 2: Verlauf der Plasma Glucosekonzentration (mmol/l, MW \pm SD) für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM NACH Behandlungsende, Behandlung $p = 0,671$, Zeit $p < 0,001$, Zeit x Behandlung $p = 0,896$

Tabelle 13: Plasmaglukose - Peak (mmol/l), Zeitpunkt des Peaks (min) und Fläche unter der Glucosekurve (AUC) für die Placebo- (n =12) bzw. Chromsupplementierung (n = 15) vor und nach Behandlung

Behandlung	Peak (mmol/l)	Zeit (min)	AUC (mmol x min / l)
Placebo vor	11,8 ± 2,0 ^a	188 ± 66,6 ^a	1746 ± 712 ^a
Placebo nach	10,7 ± 2,6 ^a	136 ± 98,5 ^a	1354 ± 945 ^a
Cr vor	12,4 ± 2,6 ^a	210 ± 70,8 ^a	1788 ± 636 ^a
Cr nach	11,0 ± 3,0 ^a	225 ± 84,6 ^a	1399 ± 746 ^a

MW mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$

Tabelle 14: Plasmaglukosekonzentrationen (mmol/l, MW ± SD) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebo- (n =12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung

Zeit	Behandlung			
	Placebo vor	Placebo nach	Cr vor	Cr nach
-30	5,5 ± 0,9 ^a	5,6 ± 0,5 ^a	6,3 ± 2,1 ^a	6,0 ± 2,0 ^a
0	6,7 ± 1,3 ^{a1}	5,8 ± 0,9 ^a	7,2 ± 2,3 ^a	6,7 ± 2,2 ^a
30	8,3 ± 1,5 ^b	6,9 ± 1,2 ^b	8,9 ± 2,1 ^b	7,9 ± 2,6 ^b
60	9,9 ± 1,5 ^b	8,7 ± 1,5 ^b	10,0 ± 2,3 ^b	8,9 ± 2,5 ^b
90	10,3 ± 1,3 ^b	9,6 ± 2,1 ^b	11,0 ± 2,7 ^b	9,3 ± 3,0 ^b
120	10,7 ± 1,3 ^b	9,5 ± 2,3 ^b	11,4 ± 2,4 ^b	9,6 ± 2,9 ^b
150	11,2 ± 1,7 ^b	9,8 ± 2,9 ^b	11,2 ± 2,8 ^b	9,7 ± 3,1 ^b
180	11,3 ± 1,8 ^b	9,5 ± 2,8 ^b	11,6 ± 2,7 ^b	10,0 ± 3,2 ^b
210	10,7 ± 2,1 ^b	9,4 ± 2,8 ^b	11,4 ± 2,9 ^b	9,8 ± 3,1 ^b
240	10,4 ± 2,1 ^b	9,3 ± 2,8 ^b	11,1 ± 3,1 ^b	9,6 ± 3,2 ^b
270	10,1 ± 2,6 ^b	9,4 ± 2,2 ^b	10,9 ± 3,2 ^b	9,5 ± 2,7 ^b
300	9,9 ± 3,1 ^b	9,0 ± 2,9 ^b	10,6 ± 3,0 ^b	9,3 ± 2,8 ^b
360	9,2 ± 2,5 ^b	8,2 ± 2,7 ^b	10,1 ± 3,2 ^b	9,0 ± 2,9 ^b
420	7,5 ± 3,1 ^b	7,5 ± 3,0 ^b	9,3 ± 3,1 ^b	8,0 ± 2,7 ^b

MW mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte zum Bezugspunkt -30 sowie innerhalb einer Zeile $p = 0.057$

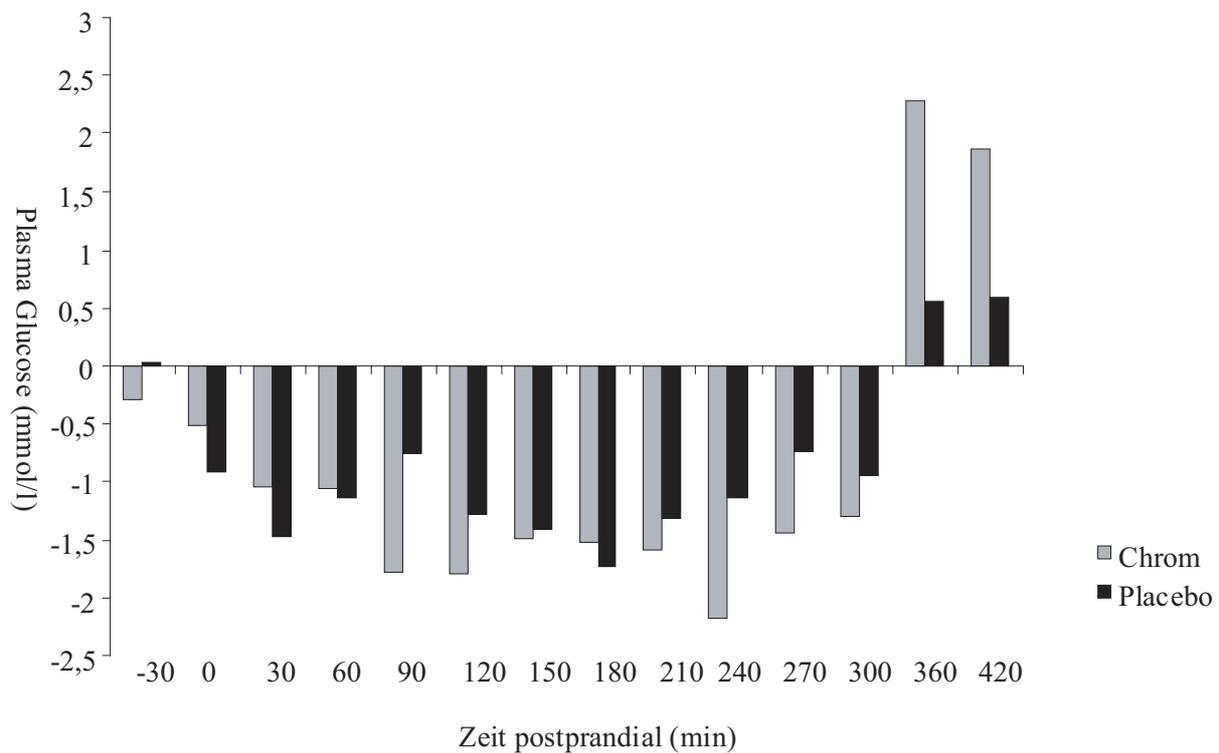


Abbildung 3: Differenzen der Plasmaglukosekonzentrationen (mmol/l, MW) zwischen dem Behandlungsende und -beginn nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM, Behandlung $p = 0,987$

Es fällt auf, dass zwischen dem Behandlungsende und dem Behandlungsbeginn negative Differenzen auftreten (siehe Abbildung 3). Dies bedeutet, dass die Glukosekonzentration nach der Chrom- bzw. Placebogabe nach der Behandlung niedriger war.

Es werden im Mittel 1-2 mmol/l niedrigere Glukosekonzentrationen erreicht. Diese Veränderungen ließen sich aber nicht mit $p < 0,05$ absichern.

5.2.5 Insulinkonzentration im Plasma vor Behandlungsbeginn

Ausgehend von einem Nüchternwert nach 12-stündigem Fasten von $63,7 \pm 81,9 \mu\text{U/ml}$ bei der chromsupplementierten Gruppe sowie $42,9 \pm 47,8 \mu\text{U/ml}$ der Placebogruppe stieg der Plasma-insulinspiegel signifikant bei beiden Gruppen nach Fütterung von 1,5 g Stärke/kg KM auf mittlere Werte von $1902 \pm 1443 \mu\text{U/ml}$ in der Chromgruppe bzw. auf $1158 \pm 753 \mu\text{U/ml}$ in der Placebogruppe an (siehe Abbildung 4 und Tabelle 16). Der Zeitpunkt des Erreichens der Maximalkonzentration der mittleren Plasmainsulinkonzentrationen lag bei den chromsupplementierten Pferden bei $280 \pm 76,6 \text{ min}$ postprandial, bei den Placebotieren bei $260 \pm 63,1 \text{ min}$ postprandial.

Zwei Pferde fielen bei den Nüchterninsulinwerte durch sehr hohe Insulinkonzentrationen von $237 \mu\text{U Insulin/ml}$ (Pferd ID 7) und $281 \mu\text{U Insulin/ml}$ (Pferd ID 8) auf.

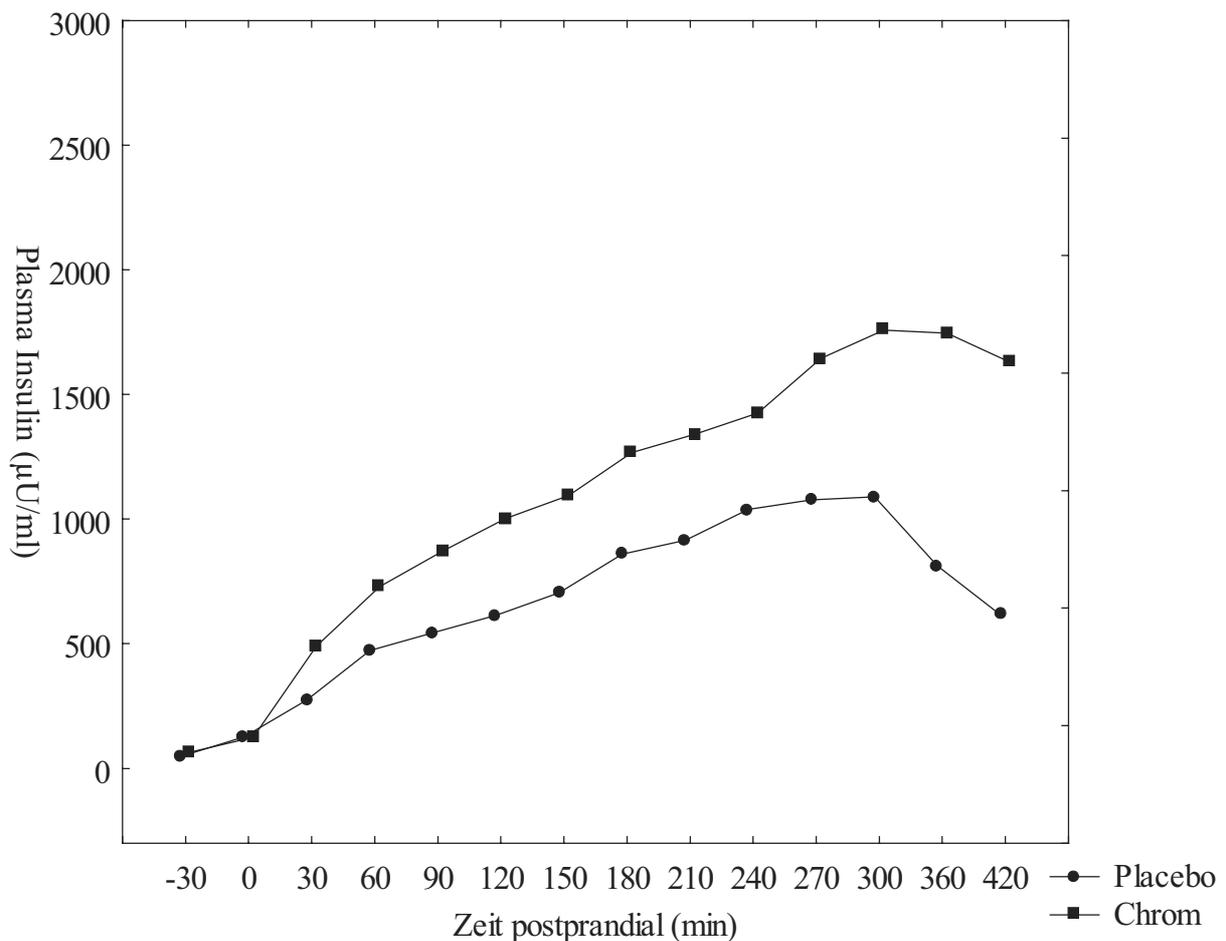


Abbildung 4: Verlauf der Plasmainsulinkonzentration ($\mu\text{U}/\text{ml}$, $\text{MW} \pm \text{SD}$) für die Placebo- ($N = 12$) bzw. Chromsupplementierung ($N = 15$) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM VOR Behandlungsbeginn, Behandlung $p = 0,136$, Zeit $p < 0,001$, Zeit x Behandlung $p = 0,016$

Zwei Pferde (ID 7, ID 60) zeigten während des Versuchsablaufs deutlich höhere Insulinausschüttungen als die übrigen Pferde mit Maximalwerten von 4065 μU Insulin/ml (ID 4) 120 min postprandial und von 4835 μU Insulin/ml (ID 60) nach 360 min postprandial. Bleiben die Maximalwerte von diesen beiden Pferden unberücksichtigt, so erreichte die chromsupplementierte Gruppe einen mittleren Maximalwert von 1510 ± 1077 μU Insulin/ml, so dass die Maximalwerte an Insulin weiterhin über den Werten der Placebotiere liegen. 420 min nach Beendigung der Mahlzeit lagen alle Pferde noch deutlich über den Basalwerten (siehe Tabelle 16).

Vor Beginn der Behandlung konnte kein Unterschied im Verlauf der mittleren Plasmainsulinkonzentration zu den einzelnen Messzeitpunkten zwischen beiden Gruppen festgestellt werden. Zwischen beiden Gruppen konnte zu Behandlungsbeginn mit $p < 0,05$ ein Unterschied bezüglich ihrer Maximalwerte (Tab. 18) und der Gesamtfläche nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM festgestellt werden.

Tabelle 15: Plasmainsulinkonzentrationen (mmol/l, MW \pm SD) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkte (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebo- (n =12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung.

Zeit	Behandlung			
	Placebo vor	Placebo nach	Cr vor	Cr nach
-30	43 \pm 48 ^a	14 \pm 8 ^a	64 \pm 82 ^a	33 \pm 36 ^a
0	112 \pm 126 ^a	21 \pm 10 ^a	119 \pm 112 ^a	123 \pm 123 ^a
30	280 \pm 184 ^a	145 \pm 106 ^a	469 \pm 613 ^b	293 \pm 249 ^b
60	471 \pm 340 ^{a1}	334 \pm 267 ^b	696 \pm 665 ^b	426 \pm 317 ^b
90	564 \pm 394 ^b	431 \pm 315 ^b	833 \pm 858 ^b	517 \pm 392 ^b
120	662 \pm 490 ^b	477 \pm 386 ^b	963 \pm 958 ^b	586 \pm 472 ^b
150	739 \pm 519 ^b	522 \pm 443 ^b	1053 \pm 910 ^b	669 \pm 554 ^b
180	877 \pm 661 ^b	576 \pm 531 ^b	1268 \pm 940 ^b	782 \pm 647 ^b
210	923 \pm 640 ^b	623 \pm 573 ^b	1285 \pm 894 ^{b*}	800 \pm 685 ^{b*}
240	1020 \pm 696 ^b	674 \pm 600 ^b	1363 \pm 936 ^b	937 \pm 819 ^b
270	1048 \pm 741 ^b	776 \pm 710 ^b	1572 \pm 1157 ^{b*}	927 \pm 743 ^{b*}
300	1036 \pm 787 ^b	753 \pm 684 ^b	1678 \pm 1334 ^{b*}	981 \pm 789 ^{b*}
360	740 \pm 530 ^b	691 \pm 704 ^b	1663 \pm 1464 ^{b*}	1023 \pm 900 ^{b*}
420	661 \pm 455 ^b	484 \pm 501 ^b	1542 \pm 1393 ^{b*}	842 \pm 765 ^{b*}

MW mit unterschiedlichen Kleinbuchstaben unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$ innerhalb einer Spalte. MW mit unterschiedlichen Symbolen unterscheiden sich signifikant mit $p < 0,05$ innerhalb einer Zeile $p = 0,54$

5.2.6 Insulinkonzentration im Plasma nach Behandlungsende

Nach der Supplementationsphase konnten Nüchternwerte für Insulin nach 12-stündiger Fastenzeit von $33,2 \pm 35,7 \mu\text{U Insulin/ml}$ bei den chromsupplementierten Pferden bzw. $14,4 \pm 8,7 \mu\text{U Insulin/ml}$ bei den Placebopferden beobachtet werden (siehe Tabelle 15).

Die Insulinkonzentrationen im Plasma stiegen postprandial an, der Zeitpunkt des Erreichens der Maximalkonzentration der mittleren Plasmainsulinkonzentrationen lag bei $270 \pm 111 \text{ min}$ (Chromgruppe) bzw. $268 \pm 95 \text{ min}$ (Placebogruppe).

Die mittleren Plasmainsulinwerte betragen dabei für die chromsupplementierte Gruppe $1277 \pm 856 \mu\text{U/ml}$ und für die Placebogruppe $883 \pm 725 \mu\text{U/ml}$ (siehe Tabelle 16).

Innerhalb der Chromgruppe konnte ein signifikanter Abfall mit $p < 0,05$ der mittleren Plasma Insulinwerte zwischen dem ersten Stärketoleranztest und dem zweiten Stärketoleranztest festgestellt werden. Im Unterschied dazu zeigte die Placebogruppe ebenfalls eine Reduktion der mittleren Plasmainsulinkonzentrationen zwischen beiden Stärketoleranztests auf, diese konnte aber nicht mit $p < 0,05$ abgesichert werden.

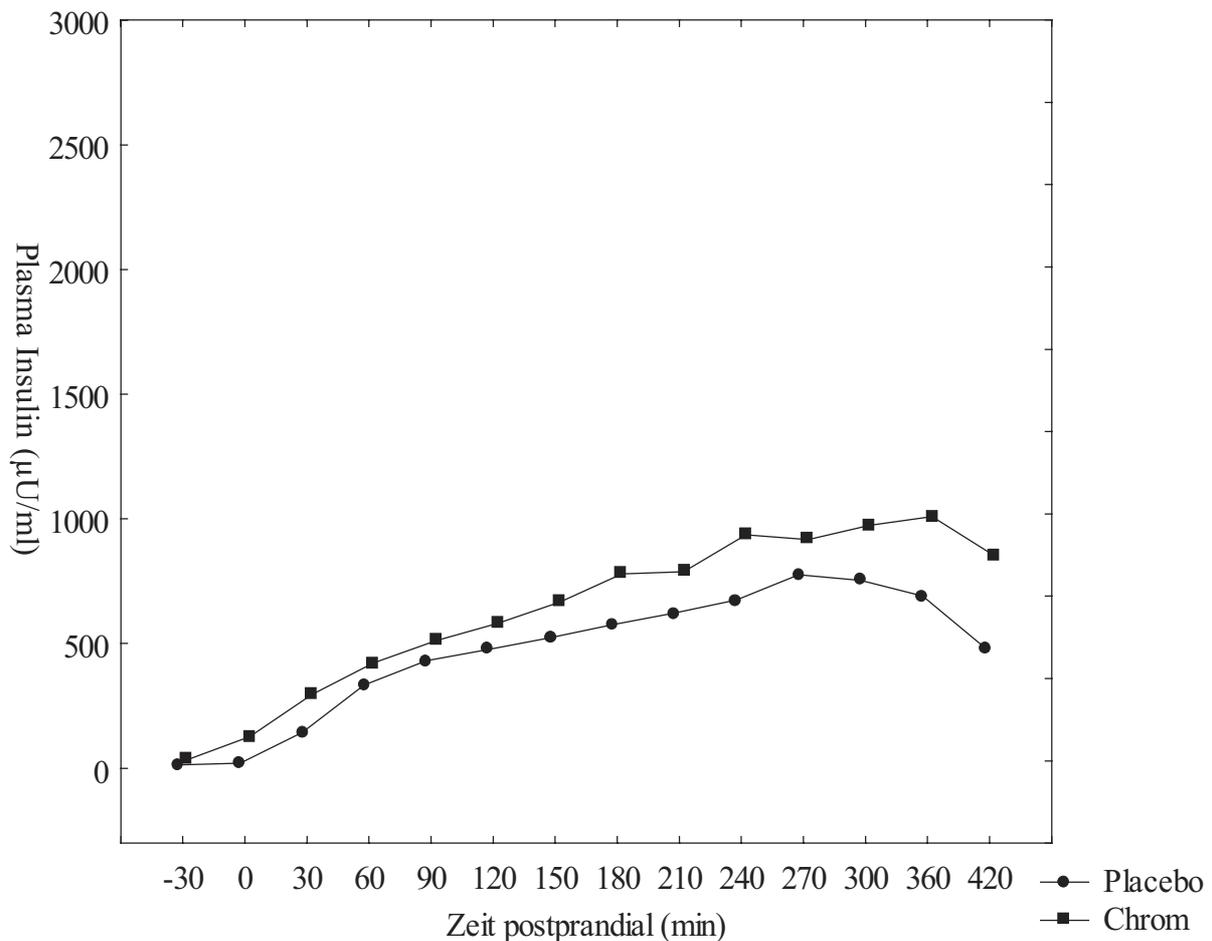


Abbildung 5: Verlauf der Plasmainsulinkonzentration ($\mu\text{U/ml}$, $\text{MW} \pm \text{SD}$) für die Placebo- ($N = 12$) bzw. Chromsupplementierung ($N = 15$) nach Aufnahme von $1,5 \text{ g}$ Stärke/kg KM NACH Behandlungsende, Behandlung $p = 0,344$, Zeit $p < 0,001$, Zeit \times Behandlung $p = 0,921$

Tabelle 16: Plasmainsulin - Peak ($\mu\text{U/ml}$), Zeitpunkt des Peaks (min) und die Fläche unter der Insulinkurve (AUC) für die Placebo- (N =12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach Behandlung

Behandlung	Max ($\mu\text{U/ml}$)	Zeit (min ppr.)	AUC ($\mu\text{U} \times \text{min} / \text{ml}$)
Placebo vor	1158 \pm 753 ^a	260 \pm 63 ^a	281541 \pm 189698 ^a
Placebo nach	883 \pm 725 ^a	268 \pm 95 ^a	220986 \pm 193617 ^a
Cr vor	1902 \pm 1443 ^b	280 \pm 77 ^a	492670 \pm 358231 ^b
Cr nach	1277 \pm 856 ^a	270 \pm 111 ^a	318892 \pm 224850 ^a

Die beiden Pferde mit der ID 7 und 60 zeigten postprandial eine deutlich niedrigere Insulinausschüttung im Vergleich zum ersten Stärketoleranztest. Sie erreichten maximale Werte von 1704 μU Insulin/ml in einer Zeit von 300 min postprandial (ID 7) und von 2886 μU Insulin/ml in 360 min (ID 60).

Ähnlich wie beim ersten Stärketoleranztest wurden auch nach Chrom - bzw. Placebosupplementierung im zweiten Stärketoleranztest die Ausgangswerte nach Stärkeaufnahme nicht erreicht (siehe Tabelle 15).

Betrachtet man die Differenz der mittleren Plasma Insulinkonzentrationen zwischen dem zweiten und dem ersten Stärketoleranztest für beide Gruppen, so werden im Mittel 180 - 700 $\mu\text{U/ml}$ niedrigere Insulinkonzentrationen in der chromsupplementierten Gruppe erreicht.

Im Unterschied dazu weisen die Placebopferde eine im Mittel von 140 - 300 $\mu\text{U/ml}$ niedrigere Insulinkonzentrationen auf. Zu den Zeitpunkten 210, 270, 300, 360 und 420 Minuten postprandial konnte zwischen der chromsupplementierten Gruppe und der placebosupplementierten Gruppe ein signifikanter Unterschied mit $p < 0,05$ bezüglich der Differenz der Plasma Insulinkonzentrationen zwischen erstem und zweitem Stärketoleranztest festgestellt werden (s. Abbildung 6).

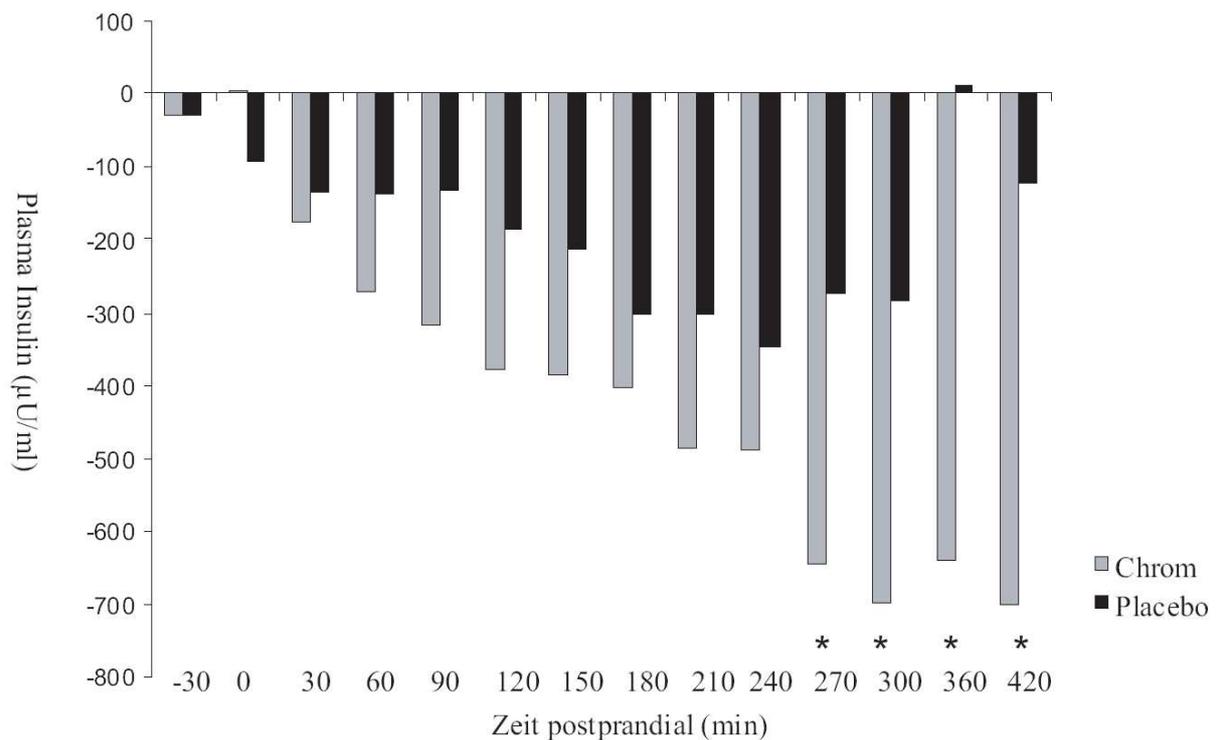


Abbildung 6: Differenzen der Plasmainsulinkonzentrationen ($\mu\text{U}/\text{ml}$, MW) zwischen dem Behandlungsbeginn und -ende nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM, Behandlung $p = 0,353$, Zeit $p < 0,001$, Zeit \times Behandlung $p = 0,146$ \times $p < 0,05$ Cr/vs Placebo.

Betrachtet man die Fläche unter der Insulinkurve für die Placebo - und die Chromsupplementierung vor und nach der Behandlung, so kann auch hier eine signifikante Verringerung der Fläche bei der chromsupplementierten Gruppe mit $p < 0,05$ abgesichert werden (siehe Tabelle 16).

5.2.7 Beziehung zwischen Plasmaglukosekonzentration und Plasmainsulinkonzentration

Es fällt auf, dass zwischen der Plasmaglukose- und -insulinkonzentration keine straffe Korrelation festgestellt werden kann (siehe Abbildung 7).

Auch bei Differenzierung der Placebo - bzw. Chromsupplementierung vor und nach Behandlung kann man keinen engen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern feststellen (siehe Tabelle 17).

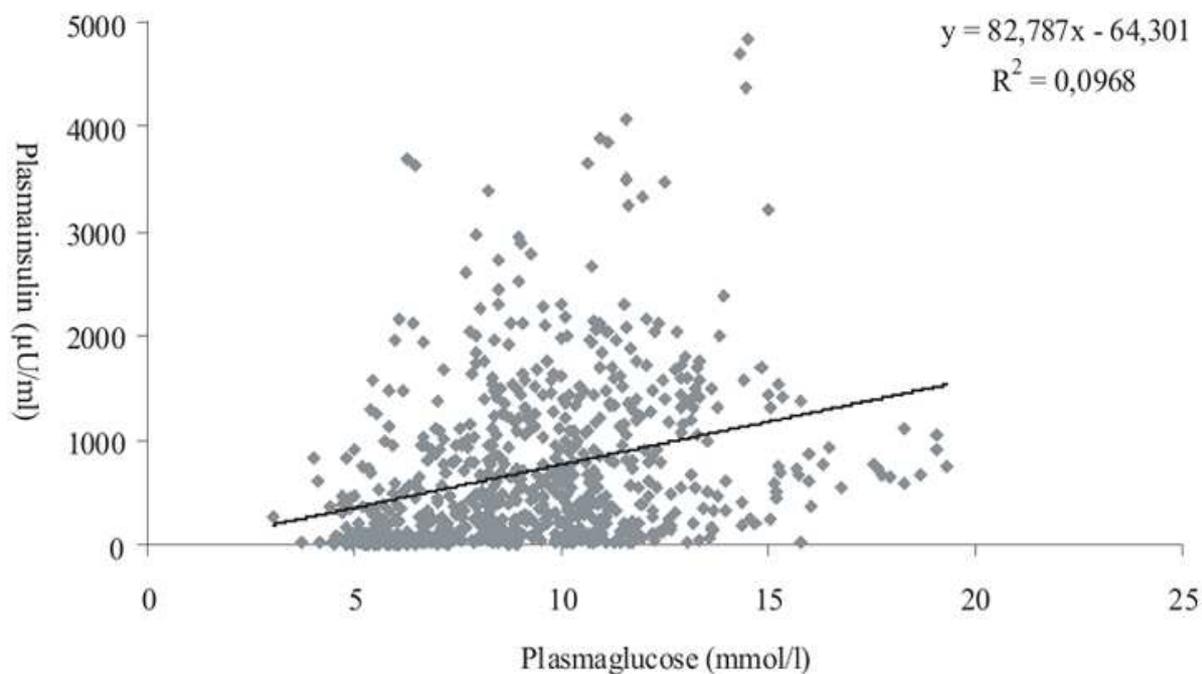


Abbildung 7: Korrelation zwischen Plasmaglukosekonzentration (mmol/l) und Plasmainsulinkonzentration ($\mu\text{U}/\text{ml}$) für die Placebo- (N = 12) und Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM VOR UND NACH Behandlung

Tabelle 17: Beziehung zwischen Plasmaglukose und Plasmainsulin für die Placebo - bzw. Chromsupplementierung nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM

Behandlung	Regression	r - Wert	N
Placebo vor	$y = 153,84x - 796$	$r = 0,662$	165
Placebo nach	$y = 133,81x - 663,2$	$r = 0,686$	168
Cr vor	$y = 209,53x - 1082,40$	$r = 0,597$	200
Cr nach	$y = 99,134x - 235,95$	$r = 0,449$	209

$y = \text{Plasmainsulinkonzentration } (\mu\text{U}/\text{ml})$

$x = \text{Plasmaglukosekonzentration } (\text{mmol}/\text{l})$

5.2.8 Beziehung zwischen den Veränderungen der Plasmaglucosekonzentration bzw. Plasmainsulinkonzentration und den Veränderungen in der KM

Sowohl die placebo- als auch die chromsupplementierten Tiere zeigen niedrigere Glucosekonzentrationen nach der mehrwöchigen Beobachtungsperiode.

Gleichzeitig kam es zu einer Abnahme in der Körpermasse. In der folgenden Abbildung ist die Beziehung zwischen diesem Zusammenhang anhand der Differenz bei den maximalen Glucosekonzentrationen (Differenz Behandlungsende - Behandlungsbeginn) und der Differenz in der Körpermasse dargestellt.

Es zeigt sich, dass es keine straffe Beziehung zwischen diesen Parametern gibt:

$$\text{Placebo } y = 0,03255x - 2,049; r = 0,03783; \text{ Chrom } y = 0,38708x - 3,260; r = 0,28609$$

wobei y = Peak Plasmaglucosekonzentration; x = KM Differenz in (%).

Betrachtet man die Differenzen der Glucosefläche (AUC) zwischen Behandlungsende und Behandlungsbeginn und die KM - Differenzen, so kann man ebenfalls keine Beziehung zwischen diesen beiden Größen darstellen

Ein ähnlicher Zusammenhang lässt sich auch für die KM- und Insulinveränderungen beschreiben.

Auch bei der Betrachtung der Differenzen der Fläche unter der Insulinkurve (Differenz Behandlungsende - Behandlungsbeginn, kann keine enge Verbindung der beiden Parameter festgestellt werden.

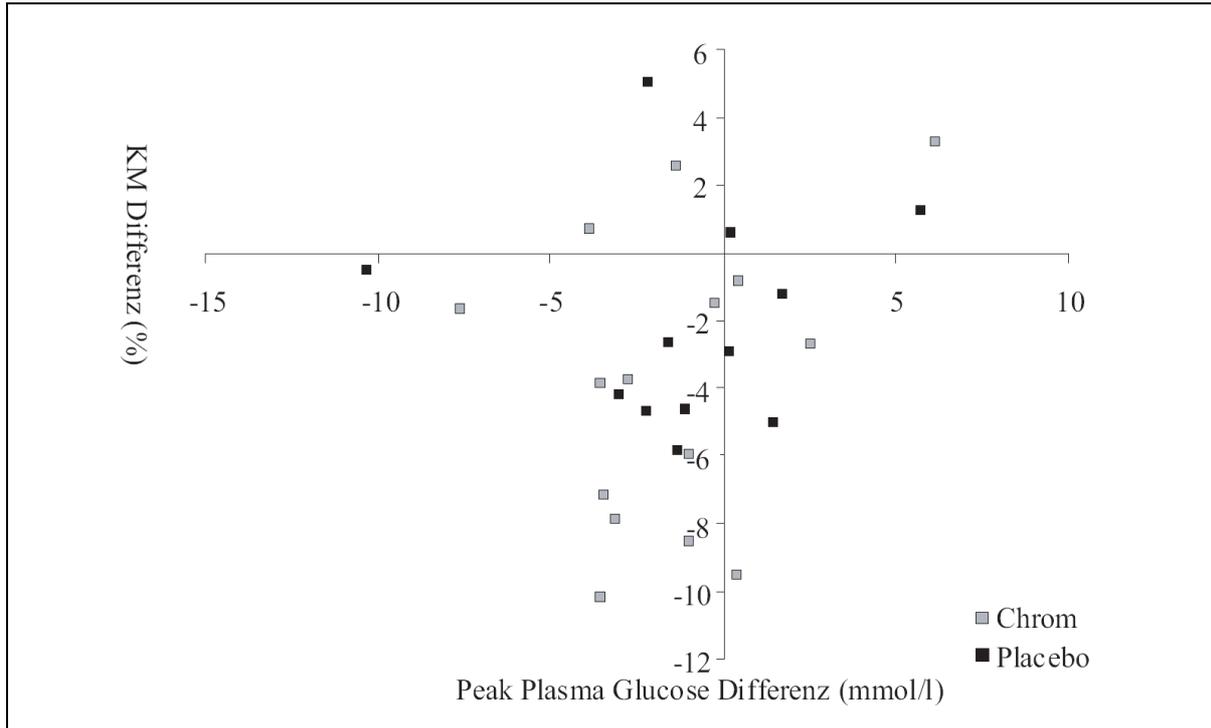


Abbildung 8: Korrelation zwischen Plasmaglucose - Peak Differenz (mmol/l) und der KM Differenz in % für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM zwischen Behandlungsbeginn und Behandlungsende. x = KM Differenz Prozent; y = Peak Plasma Glukosedifferenz

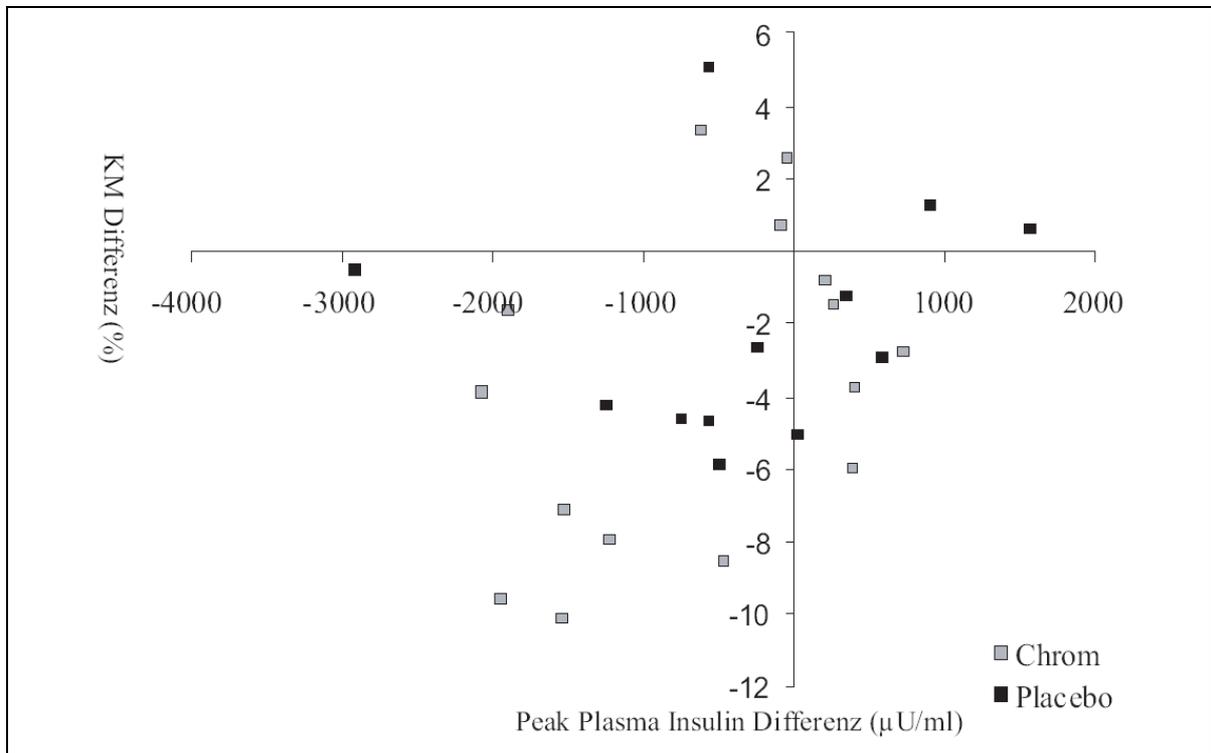


Abbildung 9: Korrelation zwischen Plasmainsulin - Peak Differenz und KM Differenz Korrelation zwischen Plasmainsulin - Peak Differenz (µU/ml) und der KM (kg) Differenz in % für die Placebo- (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM zwischen Behandlungsbeginn und Behandlungsende. x = KM Differenz Prozent; y = Peak Plasma Insulindifferenz

Tabelle 18: Beziehung zwischen der Fläche unter der Glucosekurve (AUC (mmol/l x min/l)) und der Differenz der KM (kg) in %, für die Placebo - (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM nach Behandlungsende

Behandlung	Regression	r - Wert
Placebo nach	$y = 0,0007x - 1,7999$	$r = 0,258$
Cr nach	$y = 0,0015x - 3,2448$	$r = 0,358$

$x = \text{AUC Glucose (mmol/l x min)}$ $y = \text{KM Differenz (\%)}$

Tabelle 19: Regressionsgleichung zwischen der Fläche unter der Insulinkurve (AUC($\mu\text{U/ml}$ x min)) und der Differenz der KM (kg) in %, R²-Wert, P- Wert und Tieranzahl (n) für die Placebo - (N = 12) bzw. Chromsupplementierung (N = 15) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM nach Behandlungsende

Behandlung	Regression	r- Wert	N
Cr nach	$y = 0,62E-5x - 2,734$	$r = 0,0831$	15
Placebo nach	$y = 0,34E-5x - 1,972$	$r = 0,38291$	12

$y = \text{KM Differenz (\%)}$, $x = \text{AUC Insulin } (\mu\text{U/ml x min})$

5.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der nachfolgenden Tabelle 20 sind die wesentlichen Ergebnisse zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 20: Zusammenfassung der Ergebnisse

Parameter	Placebo	Chrom	Behandlungseffekt
KM	↓	↓	(-)
BCS	(↓)	(↓)	(-)
Glucose	↓	↓	(-)
Insulin	↓	↓↓	ja

(↓) = ggr. Reduktion; ↓ = Reduktion; ↓↓ = signifikante Reduktion; (-) = kein Effekt

6 Diskussion

6.1 Kritik der Methoden

6.1.1 Auswahl der Versuchstiere

Es wurden 27 Pferde und Ponies im Alter zwischen 7 und 22 Jahren aus dem Klientel der Pferdeklinik an der Rennbahn in Iffezheim / Baden-Baden für den Hauptversuch ausgewählt. Dies ergibt eine relativ heterogene Altersstruktur, was zu einer erhöhten individuellen Variation in den von uns gemessenen Plasmaparametern Glucose und Insulin führen kann (RALSTON et al. 1988). Neben Großpferden wurden hauptsächlich Ponyrassen in die Studie miteinbezogen. JEFFCOTT et al. (1986) ermittelten bei klinisch gesunden Ponies im Vergleich zu Großpferden generell höhere postprandiale Glucosereaktionen im Plasma. Dies lässt die Vermutung zu, dass solche Ponies potentiell ein höheres Risiko aufweisen, an EMS zu erkranken als vergleichsweise Warmblüter. Dies stimmt mit unseren eigenen Untersuchungen dahingehend überein, dass in unserer Patientenauswahl zwar 18 Ponies, aber nur 2 Warmblüter vertreten waren und dies ebenfalls ein Hinweis für die erhöhte Prädisposition von Ponies, an EMS zu erkranken darstellen kann.

6.1.2 Haltung und Fütterung

Der Versuch wurde zum Teil unter Feldbedingungen durchgeführt. Das bedeutet, dass ein Teil der Versuchstiere in ihrer gewohnten Umgebung belassen wurden, um eventuelle Veränderungen im Glucose- und Insulinstoffwechsel durch Stress, Futterumstellung und Transport zu vermeiden. Dies bedingt allerdings eine strenge Einhaltung der Fütterungsvorschriften durch den Besitzer. Als standardisierte Fütterungsvorgabe wurde eine täglich Heufütterung von 1,5 kg/100 kg KM vorgegeben. Die Heumenge wurde täglich mittels Federwaage durch den Besitzer bestimmt. Die zum Teil sehr unterschiedliche Heuqualität beeinflusst die Energiezufuhr maßgeblich und bedingt so eine nicht unerhebliche Fehlerquelle, wie von der Landwirtschaftskammer Münster (2000) in einer Studie untersucht wurde. Es wurden insgesamt 48 Heuproben überprüft, unter anderem auf die Unterschiede in ihrem Energiegehalt.

Dabei wurden sowohl der Schnitzeitpunkt, Witterungs- bzw. Regeneinfluss, sowie die Ernte-technik und die Trocknungsdauer berücksichtigt. Als Spannbreite für die verdauliche Energie (DE) wurden Werte von 3,2 - 9,5 MJ ermittelt. Im Mittel lag die erzielte Energiekonzentration bei 8,0 MJ DE / kg Trockenmasse Heu. So könnte demnach die Spannbreite an aufgenommener verdaulichen Energie bei einem 250 kg schweren Pony zwischen 12 MJ DE und 35,6 MJ DE variieren und zeigt so deutlich die enormen Unterschiede bei wechselnder bzw. unterschiedlicher Heuqualität auf. Zur Gewährleistung einer sicheren Aufnahme der Chromhefe wurde den Versuchspferden die tägliche Dosis Chromhefe unter ein kohlenhydratreduziertes Mischfutter untergemischt und verabreicht. Ponies (Shetland und Welsh) erhielten 80 g Mischfutter; Kleinpferde und Pferde ca. 150 g Mischfutter täglich. Einem Versuchspferd wurde mit Hilfe einer

Maulspritze die tägliche Menge an Chromhefe verabreicht, da es zunächst die Chromaufnahme über das Mischfutter verweigerte. Innerhalb einer Woche konnte aber das Chrom, wie bei den anderen Versuchspferden, ebenfalls über das Futter verabreicht werden. Da nicht bei allen Besitzern eine gleichbleibende Fütterung und die tägliche Verabreichung von Chrom gewährleistet werden konnte, wurde ein Teil der Versuchspferde zur Durchführung der Hauptversuche einem Stallwechsel unterzogen, um standardisierte Haltungs- und Fütterungsbedingungen gewährleisten zu können. Um eventuelle Fehlerquellen durch Stressreaktionen wie Transport, fremde Umgebung und unterschiedliche Heuqualität zu vermeiden, wurde eine Adaptation der jeweiligen Versuchstiere von 3 - 4 Tagen an das neue Stallklima, sowie der Fütterungsbedingungen durchgeführt. Die doch sehr kurze Adaptationsdauer an eine mehr oder minder veränderte Grundfütterung und ein verändertes Stallklima muss als Kritikpunkt in der eigenen Studie angesehen werden. Alle Versuchspferde wurden vor Beginn des Versuchs individuell unterschiedlich gefüttert. Mit Beginn des Hauptversuchs wurden alle Pferde und Ponies auf eine, dem Körpergewicht angepasste Grundversorgung mit Heu, sowie eine ggr. Menge an stärkere-duziertem Mischfutter gestellt.

6.1.3 Auswahl der Chromhefe und Dosierung

Die Versuchspferde erhielten während des mehrwöchigen Versuchszeitraums ein Chromhefepräparat einmal täglich in einer Dosierung von 25 µg/kg KM. In früheren Studien wurden deutlich geringere Chromdosierungen angewandt. GENTRY et al. (1999) konnten keinen positiven Effekt von der Zugabe von 10 µg/kg KM Chrompicolinat auf den Glucosstoffwechsel, die Konzentrationen an freien Fettsäuren sowie Insulin, Prolactin und Wachstumshormonen bei gesunden Pferden darstellen. OTT und KIVIPELTO (1999) wiesen demgegenüber nach, dass eine Chromzulage (Chromtripicolinat, verabreicht über eine Zeitspanne von 112 Tagen) in unterschiedlicher Dosierung eine dosisabhängige Absenkung des Plasmaglucosespiegels bei gesunden Jährlingen bewirkt. Die Dosierung variierte zwischen 2,6 µg/kg KM und 17 µg Cr-tripicolinat/kg KM. Die Jährlinge mit der chromreichsten Diät zeigten die schnellste Absenkung des Plasmaglucosespiegels. Hingegen konnte weder eine Beeinflussung der Insulinsensitivität noch eine Beeinflussung der körperlichen Entwicklung durch die Supplementation mit Chromtripicolinate bei gesunden Pferden festgestellt werden. RALSTON (2003) konnte durch die Gabe von 20 µg Chrom - L - methionine/kg KM die postprandiale Ausschüttung von Insulin um 30-57 % bei gesunden Versuchspferden verringern, ohne dass eine Änderung der Glucose im Plasma auftrat. CARTMILL et al. (2005) untersuchten die Effekte einer Chrompropionatzugabe von 8 µg Cr/kg KM/d über einen Versuchszeitraum von 30 Tagen auf mögliche Veränderungen der Insulinsensitivität bei Pferden mit Übergewicht, Hyperleptinämie, Hyperglycämie und Hyperinsulinämie. Es konnte keine Verbesserung der Insulinsensitivität nach Ende der Supplementation bei den untersuchten Pferden festgestellt werden.

Die in der eigenen Studie gewählte Dosierung an Chrom fällt im Hinblick auf frühere Studien

beim Pferd deutlich höher aus. Bei der Dosisberechnung wurden Dosierungen aus der Humanmedizin übernommen, welche deutlich höher lagen, als die Dosierungen von Cr in vorangegangenen Studien über eine mögliche Wirksamkeit einer Chromsupplementation auf glykämische und insulinämische Effekte bei gesunden und erkrankten Pferden. Zur Zeit gibt es keine spezifische Bedarfsempfehlung für Chrom zur Fütterung bei Pferden.

Der Grund für den Einsatz von Chromhefen war das Bestreben, eine möglichst gute Absorption der Chromzugabe aus dem Intestinaltrakt zu erreichen. Da Chrom in anorganischer Form nur schlecht aus dem Darmtrakt resorbiert werden kann (0,5% - 2%) (BIESALSKI et al. 2001, KASPER 2004), wird durch die Bereitstellung einer organischen Chromverbindung (Chromhefen, Chrompicolinat, Chromtripolinat etc.) die Absorption um etwa 25-30% des Ausgangswertes gesteigert (BIESALSKI et al. 2001, KASPER 2004, MC DOWELL 2003).

Studien über eine unterschiedliche Wirksamkeit der verschiedenen Chromapplikationsformen (Chromhefen, Chrompicolinat, Chromtripolinat etc.) liegen für das Pferd noch nicht vor. Weitere Studien sind erforderlich, um Informationen über den genauen Chrom-Metabolismus und seine Verfügbarkeit nach oraler Aufnahme bei Pferden zu erhalten. Erschwerend kommt hinzu, dass zurzeit eine Chrom Bestimmung im Blut beim Pferd nicht etabliert ist.

6.1.4 Supplementationsdauer

Die Zeitdauer der Chromsupplementation von 28 ± 7 Tage war kürzer als in den meisten bereits veröffentlichten Studien. OTT und KIVIPELTO (1999) wählten einen Zeitraum von 112 Tagen. CARTMILL et al. (2004) untersuchten eine Chromsupplementation über einen Zeitraum von 30 Tagen. VERVUERT et al. (2006) wählten einen ebenfalls relativ kurzen Supplementationszeitraum von 21 Tagen. Aufgrund der Tatsache, dass Chrom im menschlichen Körper kaum gespeichert wird (SCHMIDT et al. 2004), sondern eine rasche Ausscheidung über die Nieren erfolgt (DO CANTO et al. 1995, BIESALSKI et al. 1999), ist die Dauer der Chromsupplementation für die eventuelle Wirkung von Chrom im Organismus vermutlich von geringer Bedeutung. Vielmehr müsste in weiteren Studien geklärt werden, ob eventuell ein Unterschied bezüglich der Chromwirkung bei täglich einmaliger Verabreichung von Chrom und der mehrmaligen Verabreichung, z.B. vor jeder Mahlzeit besteht. Ein Kritikpunkt an dem eigenen Versuchsaufbau ist in der 12-stündigen Fastenperiode zu sehen, an deren Ende die Versuchstiere einem Stärketoleranztest unterzogen wurden, jedoch keine aktuelle Chromsupplementation erfolgte. Nach der 12-stündigen Fastenperiode könnte die verfügbare Konzentration an Chrom für einen effektiven Nutzen hinsichtlich postprandialer glykämischer und insulinämischer Reaktionen zu gering sein, um wirksam die Insulinbindung am Rezeptor vermitteln zu können. Abzuklären wäre hier, ob Unterschiede hinsichtlich der Glucose- und Insulinreaktion bestünden, wenn die Versuchstiere vor Durchführung des Stärketoleranztests Chrom erhalten hätten.

FRAUCHINGER (2003) untersuchte die Wirksamkeit verschiedener Chrompicolinatdosierungen, welche 30min vor einer Testmahlzeit an normalgewichtige, nichtrauchende und klinisch

gesunde junge Männer verabreicht wurden. Bei der Supplementation von 5,7 µg Cr/kg KM bzw. 11,4 µg Cr/kg KM war die postprandiale glykämische Reaktion 20 % geringer als nach Zugabe des Placebos.

Erwähnenswert ist auch, dass Patienten mit einem bereits geringgradig veränderten Glucosemetabolismus, einen deutlicheren Effekt auf die Chromzugabe zeigten, als Patienten mit einem normalen Glucosemetabolismus (FRAUCHINGER 2003). Dies deutet daraufhin, dass Individuen mit einer veränderten Blutglucoseregulation deutlich von der Chromzugabe profitieren, allerdings nur bei kombinierter Chrom und Stärkeaufnahme.

6.1.5 Rechtsgrundlage

Chrom ist den folgenden Wirkstoffgruppen zugeordnet:

- a) Chrom, Chromverbindungen
- b) Spurenelemente
- c) Chrom als Futtermittelzusatzstoff

Zu den Spurenelementen werden Eisen (aus funktionellen Gründen) und alle Elemente, die den Gehalt von 50 mg pro kg Körpermasse nicht überschreiten, gezählt. Essentielle Spurenelemente sind Eisen, Jod, Kupfer, Mangan, Zink, Kobalt, Molybdän, Selen, Chrom, Zinn, Vanadium, Fluor und Silicium. Die Essentialität dieser Elemente wird dadurch definiert, dass bei Entfernung des jeweiligen Elements aus dem Futter allgemeine Störungen des Wachstums, der Fruchtbarkeit oder ähnliches auftreten, die beim Wiederhinzufügen des Elements zum Futter wieder verschwinden (COTZIAS 1967). Darauf beruht auch die Methodik zur Bestimmung des minimalen Bedarfs, der definiert ist als die Höhe der Spurenelementversorgung, bei der keine Mangelercheinungen auftreten. Für die praktische Fütterung ist allerdings der optimale Bedarf wichtig, also die Zufuhr, bei der die maximale Leistung erzielt wird. Dieser ist schwer, meist nur über bestimmte biochemische Kriterien zu bestimmen. Neben dem jeweiligen Optimalbedarf kann bei Spurenelementen und Vitaminen eine darüber hinausgehende Gabe positive Effekte (so genannte Sonderwirkungen) bringen (MERTZ 1986).

Diese sind z.B. Verbesserung der Fleischqualität, der Immunität, der Eutergesundheit oder der Huf- und Klauenqualität. Da diese Effekte allerdings meist noch nicht zweifelsfrei nachgewiesen sind bzw. keine genauen Ergebnisse über die nötigen Mengen vorliegen, berücksichtigen die Bedarfsempfehlungen der GfE diese Effekte nicht, sondern es werden lediglich Sicherheitszuschläge berücksichtigt, die nachteilige Auswirkung in Haltung und Fütterung ausgleichen.

Andere Institutionen, wie die Arbeitsgemeinschaft für Wirkstoffe in der Tierernährung e.V. (AWT), geben deutlich höhere Sicherheitszuschläge an, die meist auf Praxiserfahrungen beruhen und Sonderwirkungen beinhalten. Diese liegen weit unter dem Bereich, in dem toxische Wirkungen auftreten können (GfE 2001, SEEHAWER und SCHLIKFFKA 2006). Für das Pferd ist bis jetzt keine Bedarfsempfehlung für Chrom festgelegt worden.

Chrom als Futtermittelzusatzstoff

Chrom ist als Futtermittelzusatzstoff für das Pferd bisher nicht in der EG - Verordnung Nr. 1831/2003 aufgeführt. Futtermittelzusatzstoffe unterliegen seit dem 22. September 2003 einer einheitlichen europäischen Regelung durch die Verordnung (EG) Nr. 1831/2003 über Zusatzstoffe zur Verwendung in der Tierernährung. Hierin wird festgelegt, dass niemand einen Futtermittelzusatzstoff in Verkehr bringen darf, solange dieser nicht gemäß der Verordnung zugelassen ist oder die für seine Verwendung festgelegten Bedingungen oder Kennzeichnungsregeln erfüllt sind (Art.3 Abs.1 1893/2003 EG). Sofern die einzelnen Zusatzstoffe diesen Bestimmungen entsprechen, müssen Mischungen von Zusatzstoffen nicht besonders zugelassen werden (Art. 3 Abs. 4 1893/2003 EG). Zur Verwendung für wissenschaftliche Versuche unter angemessener amtlicher Aufsicht können die Mitgliedsstaaten national weitere Stoffe als Zusatzstoffe zulassen (Art. 3 Abs. 2 1893/2003 EG). Für die Zulassung eines neuen Futtermittelzusatzstoffes muss ein Antrag bei der europäischen Kommission gestellt werden, die diesen dann zur Überprüfung an die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) weiterleitet (Art. 7 Abs. 1 1893/2003 EG).

Der Antragsteller oder sein Vertreter muss in der EU ansässig sein (Art. 4 Abs. 3 1893/2003 EG). Neben dem ordnungsgemäßen Antrag muss der Futtermittelzusatzstoff für eine Zulassung weitere Bedingungen erfüllen:

- a) Er darf sich nicht schädlich auf die Gesundheit von Tier oder Mensch oder auf die Umwelt auswirken,
- b) darf nicht in einer den Anwender irreführenden Weise angeboten werden und
- c) darf keinen Nachteil für den Verbraucher durch Beeinträchtigung des tierischen Erzeugnisses oder Täuschung des Verbrauchers ergeben (Art. 5 Abs. 2 1893/2003 EG).

Der Futtermittelzusatzstoff muss zur Zulassung eine positive Wirkung auf das Futtermittel selbst, das Tier oder das aus ihm gewonnenen Erzeugnis haben, also mindestens eines der folgenden Merkmale aufweisen (Art. 5 Abs. 3 1893/2003 EG):

- a) die Beschaffenheit des Futtermittels positiv beeinflussen,
- b) die Beschaffenheit der tierischen Erzeugnisse positiv beeinflussen,
- c) die Farbe von Zierfischen und -vögeln positiv beeinflussen,
- d) den Ernährungsbedarf der Tiere decken,
- e) die ökologischen Folgen der Tierproduktion positiv beeinflussen,
- f) die Tierproduktion, die Leistung oder das Wohlbefinden der Tiere, insbesondere durch Einwirkung auf die Magen- und Darmflora oder die Verdaulichkeit der Futtermittel, positiv beeinflussen,
- g) eine kokzidiostatische oder histomonostatische Wirkung haben.

Chrom als Arzneimittel

Derzeit sind in Deutschland keine Arzneimittel verfügbar, in denen Chrom als wirksamer Bestandteil enthalten ist. In diesem Falle besteht die Möglichkeit, nach § 56a Abs. (2) Nr.2 bzw. Nr. 3 AMG, im sogenannten Therapienotstand unter anderem ein chromhaltiges humanmedizinisches Fertigarzneimittel umzuwidmen.

Bei lebensmittelliefernden Tieren ist dies allerdings nur dann möglich, wenn der Stoff in Anhang I,II, oder III der VO 2377/90 (Verordnung (EWG) des Rates vom 26.06.1990 zur Schaffung eines Gemeinschaftsverfahrens für die Festsetzung von Höchstmengen für Tierarzneimittelrückstände in Nahrungsmitteln tierischen Ursprung) enthalten ist.

Chrom ist in keinem Anhang zur Verordnung 2377/90 (EWG) aufgeführt und deshalb bei lebensmittelliefernden Tieren nicht erlaubt. Unsere Patientenbesitzer wurden auf diese Problematik aufmerksam gemacht und alle Pferde bzw. Ponies in ihren Equidenpässen als Nichtschlachtpferde eingetragen, so dass in unserem Falle eine Umwidmung aus Gründen des Therapienotstandes für jeden Patienten möglich war.

6.1.6 Stärkedosierung im Stärketoleranztest

VERVUERT et al. (2008) konnten nachweisen, dass bereits eine Stärkeaufnahme von $\geq 1,1$ g Stärke/kg KM zu einem signifikanten Anstieg von Glucose und Insulin im Plasma bei Pferden führt.

Die Stärkeaufnahme an beiden Hauptversuchstagen lag bei 1,5 g Stärke/kg KM und führte somit zu einer deutlichen Insulin- und Glucosereaktion der untersuchten Pferde und Ponies. Die zum Einsatz gekommene thermisch aufgeschlossene Stärke, sollte überdies eine Abflutung von Stärke in den Dickdarm verhindern.

6.1.7 Durchführung des Stärketoleranztest

LOEB et al. (1971) untersuchten die Glucosewerte von Pferden, die nicht wie üblich mindestens 12 Stunden vor dem Stärketoleranztest gehungert hatten. Diese Pferde reagierten mit sehr flachen Glucosekurven ohne Peak. Alle Besitzer unserer Versuchspferde wurden auf die Relevanz der Einhaltung der Nüchternphase aufmerksam gemacht, und die Versuchspferde in Gummi- oder Späneboxen mit Maulkorb in der Nacht vor dem Stärketoleranztest verbracht. LOEB et al. (1971) ermittelten einen Anstieg um 1,9 mmol/l (36%) über die basalen Glucosewerte innerhalb einer Stunde nach einer Stärkegabe von 907 g pro Pferd als 23% ige Lösung per Nasenschlundsonde. Dies entspricht einer Stärkeaufnahme von 2 g/kg KM. Danach fiel die Glucosekonzentration wieder zum Teil bis unter den Ausgangswert ab. In der eigenen Studie stiegen die Glucosewerte zum Teil bis zur 360. Minute an und erreichten Maximalwerte von $11,0 \pm 3,0$ mmol/l in der Chromgruppe und $10,7 \pm 2,6$ mmol/l in der Placebogruppe. Alle Versuchspferde erreichten nach 420 Minuten nicht wieder das Ausgangsniveau. Dieses Ergebnis bestätigt die deutlichen Veränderungen im Glucosestoffwechsel, der am equinen metabolischen Syndrom erkrankten Pferde und deckt sich mit den Untersuchungen nach JEFFCOT et al. (1986).

Demnach reagierten vor allem adipöse und reheatfällige Ponies, die im Verdacht einer Insulintoleranz stehen, mit stark erhöhten Glucose-Peaks (bis über 12,5 mmol/l). Die Konzentrationen im Plasma waren 360 min nach Applikation der Glucoselösung mit etwa 7,5 mmol/l noch nicht wieder auf das Niveau vor dem Test (4 mmol/l) zurückgegangen (JEFFCOTT et al. 1986). Als Abweichung vom oben genannten Stärketoleranztest (LOEB et al. 1971, VAN AMSTEL 1984) muss erwähnt werden, dass beide Autoren eine Verabreichung der Stärke per Nasenschlundsonde bevorzugten; wir in der eigenen Studie allerdings ein stärkehaltiges Mischfutter mit definierter Stärkemenge pro kgKM zum Einsatz gebracht haben. Wir bevorzugten die orale Stärkegabe, aufgrund der stressfreien Futteraufnahme im Vergleich zum Schieben der Nasenschlundsonde. Es ist bekannt, dass Stress eine glykämische Reaktion hervorrufen kann und so falsch positive Werte ebenfalls zu berücksichtigen wären.

6.1.8 Diagnostik der Insulinresistenz

Mittels des Glucose- bzw. Stärketoleranztest lässt sich lediglich eine Insulinreaktion nach Kohlenhydrataufnahme messen, nicht aber die Insulinsensitivität. Neueren Forschungsberichten zufolge, kann durchaus anhand des Verlaufs eines Stärketoleranztest beim Patienten auf dessen Insulinsensitivität geschlossen werden (DURHAM 2010, persönliche Mitteilung). Demnach scheinen die gemessenen Werte im Stärketoleranztest positiv mit einer verringerten Insulinsensitivität zu korrelieren. Besser für die Bestimmung der Insulinsensitivität geeignet, wäre hierfür ein sogenannter euglykämischer hyperinsulinämischer Clamptest. Dabei handelt es sich um eine kombinierte Insulin - Glucose - Infusionstechnik. Die hyperinsulinämisch-euglykämische Glucose- Clamp-Technik erlaubt die Quantifizierung der insulin-stimulierten Glucoseaufnahme unter standardisierten Bedingungen und gilt als Goldstandard zur Messung der Insulinsensitivität. Die Durchführung des Clamps erfolgt nach dem von DE FRONZO et al. (1979) beschriebenen Protokoll.

Es wird zunächst exogenes Insulin injiziert und danach eine konstante Insulininfusion verabreicht, um eine konstante Plasmainsulinkonzentration zu erhalten. Dann wird Glucose in solcher Menge infundiert, dass ein bestimmter Glucosespiegel (euglykämischer Basalwert) konstant erhalten bleibt. Dazu wird die Blutglucose alle fünf Minuten gemessen und anschließend nach dem Feedback-Prinzip die Glucoseinfusionsrate variiert. Da bei einem hyperinsulinämischen Glucose-Clamp hohe Insulinspiegel erreicht werden (Infusionsrate 1 μ U/kg KM/min), wird die endogene hepatische Glucoseproduktion annähernd komplett supprimiert (TURK et al. 1995, JACOB et al. 1995). Daher entspricht die zur Aufrechterhaltung der Euglykämie erforderliche Glucose-Infusions-Rate (GIR, in mg/KG/min) der vom Gewebe aufgenommenen Glucosemenge und kann damit als indirektes Maß für die Insulinsensitivität herangezogen werden (ROBERT et al. 1995). Hohe Dosen an Glucose zur Erhaltung der Homöostase deuten auf eine hohe Insulinsensitivität hin, während geringe Mengen benötigte Glucose auf eine geringe Insulinsensitivität, bzw. eine Insulinresistenz hinweisen.

Zur Berechnung der abgeleiteten Größen, Glucose - Infusionsrate (GIR) und metabolischer Clearance (MCR), wurden die letzten 40 Minuten der 2-stündigen Untersuchung ausgewertet, da sich hier Gleichgewichtsbedingungen (steady state) zwischen zugeführter Glucosemenge pro Zeiteinheit und der vom Körper verstoffwechselten Menge Glucose pro Zeiteinheit eingestellt hatten (RIZZA et al. 1981, RETT 1993).

Tabelle 21: Parameter der Insulinsensitivität; Minimal-Model

Steady State- Plasmaglukosekonzentration	(BGss)
Steady State- Plasmainsulinkonzentration	(Iss)
MCR	GIR/BGss in ml/kg/min
Insulin- Sensitivitäts-Index	GIR/Iss in mg/kg*min pro μ U/ml) *100

Die im steady state erreichten Plasma-Spiegel für Glucose (BGss) sowie für Insulin (Iss) werden in Relation zur infundierten GIR (in mg/kg/min) gesetzt. Dadurch wird die MCR (=GIR/BGss in ml/kg/min) und der Insulin-Sensitivitäts-Index (ISI=GIR/Iss in mg/kg*min pro μ U/ml) *100 angegeben (DE FRONZO et al. 1979, FERRANNINI und MARI 1998).

Vorteile dieser Methode sind, dass mögliche Störeinflüsse durch eine hypoglycämische Gegenreaktion, eine endogene Insulinreaktion oder eine Hyperglycämie bei diesem Verfahren ausgeschaltet werden. Ebenfalls Auskunft über eine Insulinwirkung und über die frühe und späte Phase der Insulinsekretion gibt das Minimal Modell, eine Methode, welche deutlich einfacher in der Durchführung, als die Clamp Technik ist. Beim Minimal-Model wird zunächst eine Glucosemenge infundiert und danach Insulin exogen verabreicht. Im Laufe dieses intravenösen Glucosetoleranztests werden aus einem Venenverweilkatheter mehrfach Blutproben entnommen und die Insulin- und Glucosekonzentrationen bestimmt. Ein Computermodell errechnet hieraus einen Index. Das Minimal-Modell ist eine einzigartige quantitative Methode, die derzeit die detaillierteste Bewertung einer Glucose und Insulin Dynamik liefert und dabei eine physiologische Kompartiment Darstellung des Glucose- und Insulin Regelungssystems (BERGMANN et al. 1989) veranschaulicht.

Das Minimal-Modell ermöglicht mehrere Bestimmungen (BERGMANN et al.1989):

- a) Die Änderung der Höhe der Glucose-Clearance als Reaktion auf eine bekannte exogen zugeführte Insulindosis veranschaulicht die Insulinsensitivität Index (SI) des Gewebes (TREIBER et al.2005)
- b) Die Differenz der Insulin-Glucose-Clearance und der totalen Glucose-Clearance zeigt die Insulin-unabhängige Komponente der Glucose-Clearance (Sg) (TREIBER et al. 2005)
- c) Die endogenen Insulin-Reaktion nach der Glucose Dosis (AirG) quantifiziert die pankreatische β -Zell-Antwort (TREIBER et al.2005)
- d) Durch einen Vergleich der Insulinsekretion in Relation zur Insulinsensitivität kann die Stärke der β - Zell Antwort gemessen werden (DI) (TREIBER et al. 2005).

Messungen der Insulinsensitivität, gewonnen mittels des Minimal-Model, korrelieren mit Ergebnissen aus dem euglykämischen-Clamp (PRATT et al. 2005). Das Minimal-Modell ist demnach derzeit die einzige Methode zur Differenzierung und Bestimmung der Insulin-abhängigen Glucose/Glucose Insulin-unabhängigen Clearance (TREIBER et al. 2005).

Neben einer deutlich aufwendigeren Durchführung der beiden letztgenannten Verfahren im Vergleich zum Stärketoleranztest, beinhalten sowohl der hyperinsulinämische euglycämische Clamp-Test, als auch das Minimal-Model die Gefahr der Hypoglycämie bei gesunden Pferden. In der eigenen Studie entschieden wir uns zur Durchführung eines Stärketoleranztests, da der Aufwand eines Clamp- Test oder die Durchführung des Minimal Models unter Feldbedingungen als nicht praktikabel einzuschätzen ist.

6.1.9 KM - Entwicklung

Das Fettgewebe gilt als das größte hormonell aktive Gewebe im Körper. Adipokine, welche eine wichtige Rolle in immunologischen, metabolischen und vasculären physiologischen Vorgängen im Organismus spielen, werden hier gebildet und sezerniert (HUTLEY und PRINS 2009). Diese Adipokine beinhalten Leptin, TNF- α , verschiedene Interleukine (IL-1, IL-6) sowie Plasminogen-Activator-Inhibitor-1 und führen zu einer verminderten Insulinsensitivität, einem chronischen Entzündungszustand des Organismus, einer Steigerung des oxidativen Stresses und damit zur Entstehung der Insulinresistenz (ADAMS et al. 2009).

Eine Gewichtsreduktion stellt somit eine erhebliche Präventions- und Therapiemaßnahme der Erkrankung am equinen metabolischen Syndrom mit all seinen Konsequenzen für den Organismus dar. In zahlreichen Studien (FREESTONE et al. 1998, FRANK et al. 2007, VAN WEYENBERG et al. 2008) konnte ein positiver Effekt auf den Glucosestoffwechsel bzw. eine Verbesserung der Insulinsensitivität durch eine Gewichtsreduktion festgestellt werden. FREESTONE et al. (1998) konnten eine Verbesserung der Plasmagluco- und Plasmainsulinwerte durch eine Gewichtsreduktion von bis zu 5% der KM innerhalb von 6 Wochen erreichen. VAN WEYENBERG et al. (2008) erzielten durch eine Energierestriktion von 35 - 70% eine Gewichtsreduktion von 16% innerhalb von 17 Wochen. Die Ponies zeigten eine deutliche Verbesserung der Insulinregulation nach der Gewichtsreduktion.

In der eigenen Studie wurde während des mehrwöchigen Behandlungszeitraumes eine Gewichtsreduktion bis zu 4,3% in der chromsupplementierten Gruppe und bis zu 3,2% in der Placebogruppe erreicht.

Die Versuchspferde der eigenen Studie erhielten als Raufutter 1,5 kg Heu pro 100 kg KM, das entspricht bei einem Heu von mittlerer Qualität einem Energiegehalt von ca.8 MJ DE/kg TS.

Die geringe Menge (80 -150 g/d entsprechen 0,68 MJ/d - 1,26 MJ/d) an verfüttertem Mischfutter trägt nicht weiter zur Energieaufnahme unserer Versuchspferde bei.

Tabelle 22: Verschiedene Parameter, ihre Acronyme und Berechnung der Parameter

Bezeichnend für	Parameter	Acronym	Formel	Referenzwerte
Insulinresistenz	Nüchterninsulin	-	-	$x \leq 20 \mu\text{U/ml}$
	Homeostasis Model	HOMA	$(\text{Nüchtern Ins} \times \text{Nüchtern Gluc}) \div 22,5$	$x \leq 4,5 =$ unkompen-sierte IR d.h. hohes Reherisiko $4,5 < x \leq 10 =$ kompen-sierte IR d.h. weniger Reheineigung aber streng Diät erforderlich > 10 d.h. gesunde Pferde
	Abschätzung IR	IR		
Insulinsensitivität	Insulinkonzentration			
	Sensitivitäts check index	Quicki	$1 \div (\log \text{Nüchtern Ins} + \log \text{Nüchtern Gluc})$	
	Nüchtern Glucose/ Insulin Verhältnis	FGIR	$\text{Nüchtern Gluc} \div \text{Nüchtern Ins}$	
	Reziproker Kehrwert von Insulin	RISQI	$1 \div \text{Insulin}^{-0,5}$	
β Zellfunktion des Pankreas	Homeostasis Model (insulinämischer index)	HOMA	$(20 \times \text{Nüchtern Insulin})$	
	Abschätzung des prozentualen Anteil der β Zellfunktion	B %	$\div (\text{Nüchtern Glucose} - 3,5)$	
	Modifiziertes Insulin/ Glucose Verhältnis	MIRG	$(800 - 0,3 \times (\text{Ins} - 50)^2) \div (\text{Gluc} - 30)$	
	Nüchtern Insulin/ Glucose Verhältnis (insulinämischer Index)	I:G Verhältnis	$\text{Nüchtern Insulin} \div \text{Nüchtern Glucose}$	

Geht man davon aus, dass unsere Versuchspferde vor dem ersten Stärketoleranztest Heu ad libitum zur Verfügung hatten, so könnte man für ein Pony mit dem Gewicht von 250 kg KM eine TS Aufnahmekapazität von bis zu 7,5 kg (täglich Aufnahme von bis zu 3% Trockensubstanz (in % der KM)) veranschlagen. Das entspräche bei reiner Heufütterung einer Energieaufnahme von rund 60 MJ. Bei einem angenommenen Erhaltungsbedarf von $0,6 \times \text{kg KM}^{0,75}$ ergibt sich ein Energiebedarf von 38 MJ, so dass eine deutliche Energieübersorgung vor Versuchsbeginn vorlag. Unsere Versuchspferde erhielten wie oben bereits erwähnt 1,5 kg/100 kg KM. Das würde für ein 250 kg schweres Pony eine Energieaufnahme von 30 MJ pro Tag bedeuten und stellt eine deutliche Reduktion zur ad libitum Fütterung dar.

Betrachtet man den Erhaltungsbedarf, so erhielten unsere Ponies und Pferde ca. 78% des Erhaltungsbedarfs. Berücksichtigt werden muss, dass Ponies kleiner Rassen gegenüber Klein- bzw. Großpferden einen um 10 - 15 % niedrigeren Erhaltungsbedarf aufweisen, so dass in unserem Falle davon ausgegangen werden muss, dass bei den wenigen kleinen Ponies (< 250 kg KM) in unserer Studie die Restriktion des Erhaltungsbedarfs nicht ganz so stark ausgefallen ist. Eventuell könnte der Gewichtsverlust auch durch den reduzierten Dickdarminhalt der Versuchspferde zustande gekommen sein. Dagegen spricht allerdings die Tatsache, dass alle Versuchspferde am Ende der Versuchsperiode einer weiteren BCS Ermittlung unterzogen wurden und rein adspektorisch und palpatorisch deutlich geringere Fettdepots an den klassischen Stellen aufwiesen. Da der BCS nach HENNEKE et al. (1983) nur eine subjektive Bewertung darstellen kann und überdies speziell am Quarter Horse entwickelt worden ist, sind diese Unterschiede zwischen Versuchsbeginn und Ende mit einer gewissen Fehlerquelle behaftet. Besser zur Beurteilung geeignet, wäre der von CARTER et al. (2009) entwickelte "Neck score". Dieser lag zum Zeitpunkt der Studie allerdings noch nicht vor.

Die von VAN WEYENBERG et al. (2008) veröffentlichten Ergebnisse geben Anlass zur Überlegung, ob mit einer noch stärkeren Reduktionsdiät die Ergebnisse in der eigenen Studie noch deutlicher ausgefallen wären. Allerdings ist die in der genannten Studie durchgeführte Energierestriktion nicht in der Praxis durchführbar, da zum Teil Heumengen von 0,5 kg/100 kg verfüttert wurden.

Zusätzlich zur Energierestriktion absolvierten unsere Pferde ein halbstündiges Schrittprogramm, was zu einem Energieverbrauch von 2-3 MJ DE führte (GEH 1994). Ansonsten hatten alle Versuchspferde freien Auslauf auf Sandpaddocks. Ob dieser geringe Energieverbrauch ausreicht, um die stattgefundenen Gewichtsreduktion zu erklären, bleibt eher fraglich.

Wie oben bereits erwähnt, ergaben Studien in der Vergangenheit, dass ein Gewichtsverlust mit einer Steigerung der Insulinsensitivität einhergeht. RALSTON (2002) konnte durch eine gesteigerte Arbeit in nur zwei Wochen die Insulinsensitivität bei fettleibigen und hyperinsulinämischen Ponies verbessern. Sowohl POWELL et al. (2002) als auch PRATT et al. (2006) konnten ebenfalls eine Verbesserung der Insulinresistenz bei übergewichtigen Ponies durch täglich 20 Minuten Longenarbeit (Trab) erreichen.

Man geht davon aus, dass sich durch die gesteigerte Arbeit und den dadurch bedingten Gewichtsverlust, die Insulinsensitivität durch eine bessere Bindung des Insulins an den Insulinrezeptor und durch eine steigende Glucoseaufnahme in die Muskelzellen verbessert (KELLEY et al. 1999, PURNELL et al. 1997).

Demgegenüber steht die Beobachtung, dass Körpermassenverluste, welche durch eine massive Reduktionsdiät erreicht wurden, zunächst mit einer verminderten Insulinsensitivität einhergehen, welche vom Organismus mit einer Steigerung der Insulinsekretion zu kompensieren versucht wird (CARTER et al. 2009).

In der eigenen Studie konnte ebenfalls eine Verbesserung der Insulinsensitivität bzw. eine verminderte Hyperinsulinämie zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende festgestellt werden, allerdings zeigte sich dabei keine enge Korrelation zwischen dem Körpermassenverlust und der Abnahme der Plasmainsulinkonzentration, so dass in unserem Falle weitere Faktoren zur Verringerung der Plasmainsulinkonzentrationen beigetragen haben müssen.

In der eigenen Studie zeigte die chromsupplementierte Gruppe die größere Differenz ihrer Körpermasse nach Behandlungsende im Vergleich zu den Placebotieren. Dieser Unterschied in der Gewichtsreduktion war jedoch nicht signifikant.

6.2 Nüchternwerte von Glucose und Insulin beim Pferd und ihre Bedeutung beim equinen metabolischen Syndrom

In der eigenen Studie unterschieden sich die nach 12-stündiger Nüchternperiode erfassten Nüchternglucosewerte der am equinen metabolischen Syndrom erkrankten Pferde nicht maßgeblich von den Nüchternglucosewerten der ausgeschiedenen Vorversuchspferde. So wurde als mittlerer Wert der Nüchternglucose, bei den eigenen Versuchspferden, $6,8 \pm 0,8$ mmol/l ermittelt. Ähnliche Glucosewerte konnten auch bei gesunden Pferden nach einer 12h Nüchternphase beobachtet werden (VERVURERT 2009).

Im Versuch konnten als Nüchternglucosewerte bei der chromsupplementierten Gruppe $6,3 \pm 2,1$ mmol/l und bei der Placebogruppe ein mittlerer Wert von $5,5 \pm 0,9$ mmol/l bestimmt werden. Auch CARTMILL et al. (2003) konnten keine erhöhten Nüchternglucosewerte bei übergewichtigen Pferden, welche ein ansonsten dem Diabetes Typ 2 vergleichbares Hormonprofil aufwiesen, verzeichnen. Beim Menschen dagegen spielt die Bestimmung der Nüchternglucosewerte eine zentrale Rolle. Im Gegensatz zum Pferd scheint der Mensch nicht in der Lage zu sein, einen über längeren Zeitraum kompensierten Glucosestoffwechsel durch konstant hohe Insulinausschüttungen aufrecht zu erhalten. Man geht davon aus, dass die Erschöpfung der β Zellen der Langerhanschen Zellen schneller vonstatten geht, so dass eine konstante Hyperinsulinämie zur Kompensierung der Glucose im Plasma nicht mehr gegeben ist.

Als Folge davon kommt es zur Ausbildung einer konstanten Hyperglycämie. Hier spricht man beim Vorliegen einer Nüchternplasmaglukosekonzentration von > 7 mmol/l von einem manifes-

ten Diabetes mellitus (GERICH 1988, DE FRONZO et al.1992, REAVEN 1995).

Ein weiterer wichtiger Wert zur Beurteilung des Blutzuckerspiegels, insbesondere seiner Einstellung, stellt der HbA1c- Wert dar. Dieses glycosilierte Hämoglobin (HbA1c) erlaubt eine retrospektive Abschätzung der Glycämie über einen längeren Zeitraum. Dieser beträgt entsprechend der durchschnittlichen Lebensdauer der Erythrozyten 3-4 Monate.

Das Ergebnis ist außerdem unabhängig von zirkadianen Rhythmen und anderen kurzfristigen Schwankungen der Blutzuckerkonzentration (ENGELI et al.1993). Beim Pferd gibt es hierzu noch keine Studien, darüber hinaus ist die Bestimmung von HbA1c beim Pferd nicht etabliert (ROCHER 2010 persönliche Mitteilung) .

Die Nüchterninsulinwerte indes lagen bei der chromsupplementierten Gruppe bei $63,7 \pm 81,9$ $\mu\text{U/ml}$ und bei der Placebogruppe bei $42,9 \pm 47,8$ $\mu\text{U/ml}$ vor der Behandlung.

FRANK et al. (2009) bezeichneten Nüchterninsulinwerte von >20 $\mu\text{U Insulin/ml}$ im Plasma als Zeichen einer bestehenden Insulinresistenz (ACVIM Consensus Statement 2009).

Der Nüchterninsulinwert kann somit relativ gut zur Bestimmung einer Erkrankung am EMS herangezogen werden (FRANK 2010). Zu beachten wären allerdings zwei Formen der EMS Erkrankung, welche mittels Nüchterninsulinwerten nicht sicher abgeklärt werden können. Zum einen wäre dies der Fall einer sehr milden oder noch als Vorstufe verlaufenden Insulinresistenz. Hier liegt zum Teil noch keine konstante Hyperinsulinämie vor, so dass Insulin noch innerhalb der Referenzwerte gemessen werden kann. Zum anderen liegt laut KRONFELD (2006) auch beim Pferd im späten Stadium einer Insulinresistenz ein Untergang an β -Zellen des Pankreas vor, so dass eine Hyperinsulinämie vielleicht gar nicht mehr beobachtet werden kann. Dieser Zustand wird beim Pferd aber nur sehr selten erreicht. Vorherrschend ist das klinische Bild einer Normo- oder dezenten Hyperglycämie bei bestehender Hyperinsulinämie (KRONFELD et al. 2006).

Auch CARTMILL et al. (2003) konnten im Blut übergewichtiger Pferde zum Teil erhöhte Nüchterninsulinwerte bzw. eine bestehende Hyperinsulinämie feststellen. Dies lässt vermuten, dass die von CARTMILL et al. (2003) untersuchten Pferde eine Erkrankung an EMS aufwiesen, wobei sie in der Lage waren, ihren Glucosestoffwechsel über das Stadium einer Hyperinsulinämie zu kompensieren.

Hervorzuheben ist in der eigenen Studie, dass 5 Probanden Nüchterninsulinwerte von $99,5$ $\mu\text{U/ml}$ - 281 $\mu\text{U/ml}$ aufwiesen und diese 5 Probanden, diejenigen Patienten darstellten, welche in der Vergangenheit die häufigsten und schwerwiegendsten Hufreheschübe durchlebt hatten. Dies lässt wiederum Rückschlüsse auf die Arbeit von ASPLIN et al. (2007) zu, in welcher durch die alleinige Gabe von Insulin eine Rehe bei gesunden Ponies ausgelöst werden konnte. Nicht bestätigt wurde allerdings die Annahme, dass die Pferde mit den höchsten Nüchterninsulinwerten, auch im Stärketoleranztest die höchsten Maximalkonzentrationen an Insulin aufweisen würden. Dies konnte lediglich für ein Pony bestätigt werden.

Der unterschiedliche Schweregrad der Erkrankung am equinen metabolischen Syndrom des jeweiligen Einzeltiers ist sicherlich mit als größte Variation im Verasuchsbau anzusehen.

So fanden sich bei allen Probanden in ihrer Vorgeschichte wiederkehrende Hufreheschübe. Wie oben erwähnt, wiesen interessanterweise die Probanden mit den höchsten Nüchterninsulinwerten, die häufigsten und therapieresistentesten Reheschübe auf. Denkbar wäre, dass diese Probanden aufgrund des Schweregrades der Hufrehe deutlich mehr unter den Auswirkungen des oxidativen Stresses zu leiden hätten und so falsch positive, abnorm hohe Glucosewerte erzielt werden konnten. Zum anderen scheint es einen Zusammenhang zwischen den gemessenen Nüchterninsulinwerten und dem Schweregrad der Hufrehe zu geben (CARTER et al. 2010). Dies konnten wir ebenfalls in unserer Studie bestätigen.

Am Versuchsende konnten für beide Gruppen eine Verringerung der Nüchterninsulinkonzentration verzeichnet werden. So konnte eine Verbesserung der Mittelwerte innerhalb der Chromgruppe mit $33,21 \pm 35,72 \mu\text{U/ml}$ und innerhalb der Placebogruppe mit $14,40 \pm 8,27 \mu\text{U/ml}$ erreicht werden. Ein deutlich größerer Anteil der Versuchspferde blieb unterhalb der von FRANK et al. (2009) angegebenen $20 \mu\text{U/ml}$ die als EMS verdächtig gelten. Diese Normalisierung der Nüchterninsulinwerte stellt eine Verbesserung im Glucosestoffwechsel bzw. eine Verringerung der Hyperinsulinämie dar. Trotzdem wiesen die Probanden im Verlauf des 2. Stärketoleranztests weiterhin abnorm hohe Insulinreaktionen nach Stärkeaufnahme auf, was Ausdruck des bereits schwer dekompensierten Glucosestoffwechsels der betroffenen Pferde und Ponies ist.

Vergleicht man den BCS vor der Behandlung in beiden Gruppen mit den Nüchterninsulinwerten, so fällt auf, dass die Probanden mit den höchsten Nüchterninsulinwerten auch einen sehr hohen BCS (7,5 - 8,5) aufweisen. Lediglich das Pony mit der ID 8 wies einen eher niedrigen BCS Score von 6,5 auf einer Skala von 1 - 9 nach HENNEKE et al. (1983) auf. Wie die Nüchterninsulinwerte, so modifiziert sich auch der BCS zwischen dem 1. und dem 2. Stärketoleranztest. Dies könnte ein Hinweis auf die verbesserte Insulinsensitivität durch einen Gewichtsverlust sein, allerdings konnte in der eigenen Studie keine enge Korrelation zwischen der Insulinkonzentration und dem Gewichtsverlust, also auch dem verringerten BCS bei den Probanden gefunden werden.

6.3 Veränderungen im Glucosestoffwechsel- und Insulinreaktion vor und nach Chromsupplementation

Beide Gruppen zeigten deutliche Veränderungen im Glucosestoffwechsel und der Insulinreaktion vor der Behandlung mit der Chromhefe bzw. mit dem Placebo. Die Konzentrationen von Glucose und Insulin stiegen nach einer definierten Stärkeaufnahme im 1. Stärketoleranztest postprandial um das Zweifache in beiden Gruppen an. Im Vergleich mit gesunden Pferden konnte ein deutlicher Unterschied im Hinblick auf die Glucosekonzentration nach 2 Stunden festgestellt werden. Der hohe Anstieg der Glucosekonzentration der am metabolischen Syndrom erkrankten Pferde

sowie das Nichterreichen des Ausgangsniveaus nach 420 min, ist Ausdruck für die bereits extrem dekompensierte Stoffwechselsituation der Versuchspferde und Ponies, ebenso wie die schlechte Korrelation zwischen der Plasmaglukosekonzentration und der Plasmainsulinkonzentration (s. Abbildung 8). JEFFCOTT und FIELDS (1986), FREESTONE et al. (1992) und JUNE et al. (1992) verzeichneten einen deutlichen Anstieg der Insulinkonzentration im Plasma innerhalb der ersten halben Stunde im oralen Glucosetoleranztest. Die Maximalwerte beim gesunden Warmblüter stiegen im oralen Glucosetoleranztest nicht wesentlich über 50 $\mu\text{U/ml}$. Bei Ponies und insbesondere bei adipösen und reheatfälligen Tieren konnten Insulinwerte im Plasma bis über 500 $\mu\text{U/ml}$ gemessen werden. Auch in der eigenen Studie wurden die höchsten Insulinkonzentrationen bis maximal 4835 $\mu\text{U/ml}$ bei Ponies gemessen. JUNE et al. (1992) verzeichneten für Ponies einen schnelleren Insulianstieg von ca. 1 $\mu\text{U/ml}$ pro Minute innerhalb der ersten Stunde nach der Durchführung eines oralen Glucosetoleranztests, so dass nach 60 min bereits maximale Insulinspiegel erreicht waren, während bei Warmblütern erst nach 120 min ein Insulinpeak beobachtet wurde (Anstieg ca. 0,3 $\mu\text{U/ml}$ pro min bis Zeitpunkt 120).

In der eigenen Studie konnte ein Ansteigen der Insulinkonzentration bis zu Minute 360 verzeichnet werden. Keines unserer Versuchspferde erreichte nach 420 min wieder das Ausgangsniveau. Auch dies ist als Ausdruck der massiven Störung im Glucosestoffwechsel der betroffenen Probanden anzusehen.

Erwähnenswert ist, dass beide Gruppen bereits vor der Chrom- bzw. Placebosupplementation deutlich unterschiedliche Insulinpeaks aufwiesen. So zeigte die Chromgruppe einen Anstieg des Plasmainsulinspiegels auf Maximalwerte von $1902 \pm 1443 \mu\text{U/ml}$ gegenüber der Placebogruppe, welche lediglich Werte von $1158 \pm 753 \mu\text{U/ml}$ erreichte. Demzufolge kann nicht völlig ausgeschlossen werden, dass diese unterschiedlichen Ausgangswerte in beiden Gruppen, das Ergebnis der Studie mit beeinflusst haben könnten. Die Pferde und Ponies wurden den beiden Gruppen per Zufallsprinzip zugeteilt. Die hier bedeutend höhere Insulinausschüttung in der chromsupplementierten Gruppe ist demnach als Hinweis auf den bereits fortgeschrittenen Schweregrad der Erkrankung der einzelnen Individuen zu werten. Über die große Variation der Insulinkonzentration wurde in mehreren Studien bereits berichtet (FREESTONE et al. 1992, PRATT et al. 2009).

Als Medikation wurden in der Vergangenheit in aller Regel NSAIDs verabreicht. Diese NSAIDs verschlechtern die Glucosetoleranz, indem sie sich negativ auf den Hormonstatus der Schilddrüse auswirken (MORRIS und GRACIA, 1983), was wiederum zu einer Gewichtszunahme und einer dadurch verschlechterten Insulinsensitivität führen kann. Keines unserer Versuchspferde erhielt zum Zeitpunkt des Versuchsablaufs NSAIDs; es liegen allerdings keine Studien über den zeitlichen Verlauf einer Normalisierung der Stoffwechsellagen nach NSAID Einnahmen beim Pferd vor. Ein weiterer Grund für die starken individuellen Schwankungen könnte in der sehr heterogenen Altersstruktur der Pferde und Ponies zu finden sein.

RALSTON et al. (1989) beschrieben für ältere Pferde (> 20 Jahre) signifikant höhere Insulinkonzentrationen im oralen Glucosetoleranztest. Demgegenüber verzeichneten sie zwar signifikant niedrigere Glucoseausgangswerte bei den älteren Pferden; die Maximalkonzentrationen unterschieden sich jedoch nicht voneinander. RALSTON et al. (1989) stellten zudem einen Zusammenhang mit dem Auftreten von Hypophysen- und / oder Schilddrüsenadenomen bei den über 20-jährigen Versuchspferden her. Auch in der eigenen Studie sind 3 Probanden über 20 Jahre alt. Sie wurden im Vorfeld der Studie auf das Vorliegen eines Cushings überprüft. Bei keinem der genannten Pferde wurde ein Hypophysenadenom diagnostiziert. Neueren Forschungsberichten nach, geht nicht jedes klinische Erscheinungsbild eines Cushings mit einem Hypophysenadenom bei den betroffenen Patienten einher. Vielmehr kann oxidativer Stress bzw. chronische Insulinresistenz zu einem Verlust der dopaminergen Innervation der melantropen Zellen der Pars intermedia führen, in dessen Folge es zur Ausbildung eines Equinen Cushing Syndroms kommt (FARLANE et al. 2005). Sowohl die chromsupplementierte als auch die Placebogruppe wiesen nach Behandlung mit Chrom bzw. einem Placebo, eine im Mittel um 1-2 mmol/l niedrigere mittlere Blutglucosekonzentration auf.

Die Reduktion des Plasmaglucosespiegels nach Chromsupplementation deckt sich mit den Ergebnissen von OTT und KIVIPELTO (1999), welche eine schnellere Absenkung des Glucosespiegels bei gesunden Tieren beobachteten. Im Unterschied dazu konnten GENTRY et al. (1999), CARTMILL et al. (2005) und RALSTON (2003) keine Verbesserung des Blutglucosespiegels durch eine Chromsupplementation erreichen; allerdings erzielten FRAPE et al. (1998) sowie RALSTON (2003) eine deutliche Verbesserung der Insulinresistenz (Verringerung der Hyperinsulinämie) durch Zugabe von 10 - 24 µg Chrom (Chromhefe bzw. Chrom- L- methionin)/ kg KM.

Eventuell wäre eine deutlichere Absenkung der Plasmaglucose erfolgt, wenn die Versuchspferde am jeweiligen Tag des Stärketoleranztest ebenfalls Chrom erhalten hätten. Beim Menschen konnte eine positive Wirkung einer kombinierten Chromsupplementation bei gleichzeitiger Stärkeaufnahme nachgewiesen werden (FRAUCHINGER et al. 2006). Unsere Pferde erhielten am Tag des Stärketoleranztest keine Chromzugabe mehr, denkbar wäre also, dass die Konzentration des zur Verfügung stehenden Chroms im Organismus zu gering gewesen ist, um eine optimale Insulinwirkung am Rezeptor zu bewirken. Weitere Studien sind notwendig, um eventuelle Verbesserungen des Glucosestoffwechsels bei an EMS erkrankten Pferden durch akute Gaben von Chrom bei gleichzeitiger Stärkeaufnahme zu erforschen. Da die Reduktion allerdings in beiden Gruppen stattfand, kann sie nicht alleine der Chromsupplementation angeordnet werden. Der stattgefundenen Gewichtsverlust in beiden Gruppen und die tägliche Bewegung müssen ebenso als mögliche Faktoren betrachtet werden, welche zur Reduktion der Blutglucose beigetragen haben. Nach der Chrom bzw. Placebogabe kam es in beiden Gruppen der eigenen Studie zu einer deutlichen Verringerung der Insulinkonzentrationen im 2. Stärketoleranztest.

Dabei erzielte die chromsupplementierte Gruppe im Mittel 180 - 700 $\mu\text{U/ml}$ niedrigere Insulinkonzentrationen zwischen dem 1. und dem 2. Stärketoleranztest, während die Placebogruppe als Differenz zwischen den beiden Stärketoleranztests lediglich eine Verringerung der Insulinkonzentration um im Mittel 140 - 300 $\mu\text{U/ml}$ Plasma aufwies (Abb.7).

Für die Chromgruppe decken sich so die Ergebnisse teilweise mit Arbeiten aus der Humanmedizin. ANDERSON et al. (1997) erzielten durch die tägliche Gabe von 2,5 - 14,2 $\mu\text{g Cr/kg KM}$ eine deutliche Verbesserung der Glucosetoleranz, erniedrigte Nüchtern-glucosewerte und erniedrigte Insulinspiegel. CEFALU et al. (2004) erzielten eine Verbesserung der Insulinsensitivität und des Glucosestoffwechsels bei Personen mit verminderter Glucosetoleranz bzw. beim Vorliegen eines Diabetes Typ 2 mit der täglichen Gabe von 14,2 $\mu\text{g Cr}$ pro Tag. Die Probanden zeigten in der mehrwöchigen Untersuchungsphase zudem geringere Gewichtszunahmen als die Placebobehandelten Patienten.

FRAUCHINGER et al. (2006) wiesen einen positiven Effekt einer akuten, d.h. einer Cr- Supplementierung 30 min vor stärkehaltiger Nahrungsaufnahme beim Menschen auf die Insulinsensitivität nach. Des Weiteren konnten FRAUCHINGER et al. (2006) ein deutlich verbessertes Ansprechen der Chromtherapie bei denjenigen Individuen verzeichnen, welche eine verminderte Glucosetoleranz aufwiesen. Die in der Humanmedizin durchgeführten Studien geben Anlass zur Überlegung, dass eine Chromsupplementierung vor allem bei Individuen mit bereits dekompensiertem Glucosestoffwechsel, einen positiven Effekt auf die Insulinsensitivität ausübt und somit zur Verbesserung des Glucosestoffwechsels beiträgt. Im Unterschied zu den Ergebnissen beim Menschen und der eigenen Studie konnten CARTMILL et al. (2004) allerdings keinen positiven Effekt auf die Insulinsensitivität bzw. den Glucosestoffwechsel bei Pferden, welche ein Diabetes Typ 2 ähnliches Krankheitsbild aufwiesen, verzeichnen.

In der eigenen Studie war dagegen eine signifikante Verbesserung der Insulinreaktion der chromsupplementierten Pferde zu verzeichnen. Vor allem die Individuen mit sehr hohen Insulinausschüttungen während des ersten Stärketoleranztests profitierten von der Chromsupplementierung. Trotzdem lagen alle Versuchspferde aber noch deutlich über der physiologischen Norm im Vergleich mit gesunden Pferden (VERVUERT et al. 2009). Als mögliche Ursachen für diese weiterhin hohen Insulinausschüttungen kommen verschiedene Faktoren in Frage. Aufgrund der unterschiedlich weit fortgeschrittenen Erkrankung am metabolischen Syndrom zeigten einige der Pferde im Vorfeld der Untersuchung bereits eine Polyurie. Es wäre durchaus denkbar, dass bei diesen Tieren ein noch größerer Prozentsatz des aufgenommenen Chroms über die Nieren direkt wieder ausgeschieden wird.

Da Chrom auch bei gesunden Pferden und Ponies rasch wieder aus dem Organismus über die Nieren ausgeschieden wird, wäre die somit zur Verfügung stehende resorbierte Chrommenge bei diesen Probanden eventuell noch geringer ausgefallen. CLODFELDER et al. (2004) berichteten über einen vermehrten Chromverlust über die Nieren, einen vermehrten Austausch an Chrom vom Blut ins Gewebe (v. a. Muskelgewebe) und eine deutlich veränderte Verteilung von

Chrom im Blut bei Ratten mit Diabetes. Auch bei unseren Versuchspferden wäre somit eventuell diese Problematik des veränderten Chromstoffwechsels gegeben und muss bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden.

Eine größere zur Verfügung stehende Menge an Chrom hätte eventuell eine noch deutlichere Veränderung bezüglich der Insulinreaktion und des Glucosestoffwechsels bewirkt. Bei einer größeren Menge an Chrom könnte sich eventuell das Problem einer Konkurrenz von Eisen und Chrom um die selbe Bildungsstelle am Transferrin ergeben. Eine Eisenmangelanämie aufgrund großer Chromgaben wurde bei Ratten beobachtet (ANI u. MOSHTAGHIE 1992). Zusätzlich sollte bedacht werden, dass mehrere ältere Pferde in den Versuch eingebunden waren, und beim älteren Pferd eventuell eine schlechtere Resorption des schon unter normalen Umständen schwer resorbierbaren Chroms stattgefunden hat.

Darüber hinaus fielen aber auch die Placebotiere mit einer moderateren Insulinreaktion im 2. Stärketoleranztest auf. Entscheidend hierfür könnte die sowohl für die Cr als auch für die Placebogruppe festgestellte deutliche Gewichtsreduktion durch das Bewegungsprogramm sein, so dass ein Zusammenhang zwischen Körpermassenverlust und verbesserter Insulinregulation nicht ausgeschlossen werden kann. Wie oben bereits erwähnt, könnte die Gewichtsreduktion allerdings durchaus aufgrund der reduzierten Energiezufuhr und der konstanten Bewegung der Versuchstiere zustande gekommen sein. Korreliert man allerdings die KM - Verluste mit der Veränderung der Insulinreaktion, so konnte in der eigenen Studie kein enger Zusammenhang festgestellt werden, sodass weiter bislang unbekannte Faktoren von Bedeutung sein können.

7 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass im wesentlichen Insulin, nicht aber Glucose im Blut zur Diagnostik des EMS geeignet zu sein scheint.

Nüchterinsulinwerte $> 20 \mu\text{U}$ Insulin/ ml Plasma gelten als sicherer Referenzwert für das Vorliegen einer Insulinresistenz (FRANK 2009) und weisen auf eine veränderte Glucoseregulation hin. Generell können aber Insulinwerte $< 20 \mu\text{U}$ Insulin/ml Plasma nicht als Ausschlusskriterium gelten. Hier stehen zukünftige Studien aus, um praxisrelevante Methoden z.B. im Vergleich zum Minimal-Model validieren zu können.

Chrom scheint eine Verbesserung der Insulinsensitivität bewirken zu können, allerdings fand in der vorliegenden Studie eine deutliche Energierestriktion und ein damit in Verbindung stehender Körpermassenverlust zur gleichen Zeit statt, so dass die Verbesserung der Insulinregulation durchaus als Kombination dieser 3 Faktoren angesehen werden muss.

Weitere Studien sind notwendig, um die Effektivität von Chrom untermauern zu können. Insbesondere die Frage nach dem Dosierungsintervall, sowie die Festlegung des Chrombedarfs bei gesunden und kranken Pferden bzw. geeignete Messmethoden des Chromgehaltes im Organismus müssen im Vordergrund weiterer Versuche stehen.

8 Zusammenfassung

Barbara Oßwald

Effekte einer Chromhefezulage auf die glykämischen und insulinämischen Reaktionen bei insulinresistenten Ponies und Pferden.

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Eingereicht im Oktober 2010

74 Seiten, 9 Abbildungen, 35 Tabellen, Literaturangaben, Anhang

Schlüsselwörter: Equines Metabolisches Syndrom, Insulinresistenz, glykämische und insulinämische Reaktionen, Ponies, Pferde, Chromhefesupplementation

Dem Spurenelement Chrom wird seit mehreren Jahrzehnten eine maßgebliche Funktion im Glucosestoffwechsel zugeschrieben. In der vorliegenden placebokontrollierten Studie wurden die Effekte einer Chromhefezulage bei insulinresistenten Ponies und Pferden untersucht.

Aus dem Patientenkontext der Pferdeklinik an der Rennbahn wurden mittels eines Stärketoleranztest 27 Ponies und Pferde ausgewählt, welche einen veränderten Glucosestoffwechsel aufwiesen. Die Versuchsprobanden waren $13,9 \pm 4,8$ Jahre alt, wiesen eine mittlere Körpermasse von 422 ± 138 kg und einen mittleren Body Condition Score von $7,6 \pm 0,8$ (Skala 1-9) auf. Die 27 Ponies und Pferde wurden nach dem Zufallsprinzip in 2 Gruppen unterteilt. Die Chromgruppe (N=15) erhielt über einen Zeitraum von 28 ± 7 Tagen eine Chromhefezulage in einer täglichen Dosierung von $25 \mu\text{g}/\text{kg KM}$, die Placebogruppe (N=12) erhielt eine Hefezulage ohne Chrom in derselben Hefemenge wie die Chromgruppe.

Während des Versuchszeitraumes wurden alle Probanden mit Heu $1,5 \text{ kg}/100 \text{ kg KM}$ gefüttert. Zu Beginn und am Ende des Versuchszeitraumes wurde jeweils ein Stärketoleranztest ($1,5 \text{ g Stärke}/\text{kg KM}$) über eine Dauer von 420 min durchgeführt. Die Blutproben wurden postprandial in definierten Intervallen entnommen.

In beiden Gruppen konnte ein deutlicher Gewichtsverlust über die vierwöchige Versuchszeit beobachtet werden. Dabei wurde ein signifikanter Gewichtsverlust bei der chromsupplementierten Gruppe von $3,8 \pm 4,3 \%$ ($p < 0,05$) und ein ebenfalls signifikanter Gewichtsverlust bei der Placebogruppe von $2,1 \pm 3,2 \%$ ($p < 0,05$) verzeichnet.

Unterschiede zwischen den Behandlungsgruppen konnten aber nicht mit $p < 0,05$ abgesichert werden.

Die Ruheglucosekonzentrationen bewegten sich bei den chromsupplementierten Tieren im Mittel bei $6,3 \pm 2,1$ mmol/l, die placebosupplementierte Gruppe wies mittlere Werte von $5,5 \pm 0,9$ mmol/l auf. Nach der Behandlung konnten Ruheglucosekonzentrationen von $6,0 \pm 2,0$ mmol/l für die chromsupplementierten Tiere und Ruheglucosekonzentrationen von $5,6 \pm 0,5$ mmol/l für die placebosupplementierten Probanden gemessen werden. Die Nüchterninsulinkonzentrationen im Plasma lagen vor der Supplementierung bei $63,7 \pm 81,9$ μ U/ml für die Chromgruppe und bei $42,9 \pm 47,8$ μ U/ml für die Placebogruppe. Nach der Behandlung konnten Nüchterinsulinkonzentrationen bei den chromsupplementierten Pferden und Ponies von $33,2 \pm 35,7$ μ U/ml sowie bei den placebosupplementierten Tieren von $14,4 \pm 8,7$ μ U/ml verzeichnet werden. Diese Veränderung der Nüchterninsulinwerte innerhalb der beiden Behandlungsgruppen war jedoch nicht signifikant.

Beim 1. Stärketoleranztest erreichte die Chromgruppe eine mittlere maximale Plasmaglukosekonzentration von $12,4 \pm 2,6$ mmol/l mit Einzelwerten bis zu 19,3 mmol/l, die Placebogruppe wies eine mittlere maximale Plasmaglukosekonzentration von $11,8 \pm 2,0$ mmol/l mit Einzelwerten bis 16,3 mmol/l auf. Die Plasmainsulinkonzentrationen stiegen im 1. Stärketoleranztest bei der Chromgruppe auf mittlere maximale Werte von 1902 ± 1393 μ U/ml sowie in der Placebogruppe auf 1158 ± 753 μ U/ml.

Im 2. Stärketoleranztest erreichte die Chromgruppe eine mittlere maximale Plasmaglukosekonzentration von $11,0 \pm 3,0$ mmol/l und die Placebogruppe wies eine mittlere maximale Plasmaglukosekonzentration von $10,7 \pm 2,6$ mmol/l auf (Behandlung und Zeit: nicht signifikant). Die Plasmainsulinkonzentrationen der Chromgruppe stiegen im 2. Stärketoleranztest auf mittlere maximale Plasmainsulinkonzentrationen von 1277 ± 856 μ U/ml, für die placebosupplementierte Gruppe wurden mittlere Maximalwerte von 883 ± 725 μ U/ml ermittelt; diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Der beobachtete Körpergewichtsverlust scheint für beide Gruppen von Bedeutung für die Verbesserung der Insulinresistenz zu sein. Nach der vierwöchigen Supplementierungsphase konnte allerdings bei den Tieren die Cr erhalten, eine deutlichere Reduktion bei der Insulinreaktion im Verlaufe des 2. STT beobachtet werden, wohingegen die Placebopferde nur eine moderate Veränderung in der Insulinreaktion aufwiesen.

9 Summary

Barbara Oßwald

Effects of a chromium yeast supplement on the glycaemic and insulinaemic responses in insulin resistant ponies and horses.

Institute for Animal Nutrition, Nutritional Disorders and Dietetics, Faculty of Veterinary Medicine, Leipzig University

Submitted in October 2010

74 pages, 9 figures, 35 tables, list of references, appendix

Key Words: Equine Metabolic Syndrome, insulin resistance, glycaemic and insulinaemic responses, ponies, horses, chromium yeast supplements

For several decades the trace element chromium has been considered to play a significant role in glucose metabolism. This placebo-controlled study examined the effects of a chromium yeast supplement in insulin resistant ponies and horses.

By means of a starch tolerance test 27 ponies and horses that had an altered glucose metabolism were selected from the patients at the horse clinic "An der Rennbahn". The animals had an average age of 13.9 ± 4.8 years and had an average body mass (BW) of 422 ± 138 kg and an average body condition score of 7.6 ± 0.8 on a scale of 1-9. The 27 ponies and horses were randomly divided into 2 groups. The chromium group (N=15) was given a daily dose of $25 \mu\text{g/kg BW}$ of a chromium yeast supplement for a period of 28 ± 7 days, the placebo group (N=12) was given the same amount of a chromium-free yeast supplement.

During the test period, all the subjects were given a hay based diet of $1.5 \text{ kg hay}/100 \text{ kg BW}$. At the beginning and at the end of the experimental period, a starch tolerance test ($1.5 \text{ g starch/kg BW}$) was carried out for a duration of 420 min. Blood samples were collected postprandially at defined intervals.

In both groups considerable weight losses were observed over the four-week test period. There was significant weight loss in the chromium supplemented group of $3.8 \pm 4.3 \%$ ($p < 0.05$) and similarly significant weight losses in the placebo group of $2.1 \pm 3.2 \%$ ($p < 0.05$). However, differences between the treatment groups could not be confirmed with $p < 0.05$. On average the basal glucose concentrations in the chromium supplemented animals were $6.3 \pm 2.1 \text{ mmol/l}$, and the placebo-supplemented group had average basal glucose level of $5.5 \pm 0.9 \text{ mmol/l}$. After the treatment, basal glucose concentrations of $6.0 \pm 2.0 \text{ mmol/l}$ were found for the chromium-supplemented animals and resting glucose concentrations of $5.6 \pm 0.5 \text{ mmol/l}$ were measured for

the placebo-supplemented horses and ponies.

Before starting the supplementation, the resting plasma insulin concentrations were 63.7 ± 81.9 $\mu\text{U/ml}$ for the chromium group and 42.9 ± 47.8 $\mu\text{U/ml}$ for the placebo group.

After the treatment, the basal insulin concentrations in the chromium-supplemented horses and ponies were recorded at 33.2 ± 35.7 $\mu\text{U/ml}$ and at 14.4 ± 8.7 $\mu\text{U/ml}$ in the placebo-supplemented animals (treatment not significant).

In the 1st starch tolerance test, the chromium group obtained a mean plasma glucose concentration of 12.4 ± 2.61 mmol/l with individual values of up to 19.3 mmol/l , the placebo group showed an average plasma glucose concentration of 11.8 ± 1.98 mmol/l with individual values of up to 16.3 mmol/l . The plasma insulin concentrations rose in the 1st starch tolerance test in the chromium group to mean maximum value of 1902 ± 1393 $\mu\text{U/ml}$ and in the placebo group up to 1158 ± 753 $\mu\text{U/ml}$.

In the 2nd starch tolerance test, the chromium group obtained a mean maximum plasma glucose concentration of 11.0 ± 3.0 mmol/l and the placebo group showed an average maximum plasma glucose concentration of 10.7 ± 2.6 mmol/l (treatment not significant). The plasma insulin concentrations in the chromium group increased in the 2nd starch tolerance test to an average maximum plasma insulin concentration of 1277 ± 856 $\mu\text{U/ml}$ and for the placebo-supplemented group mean maximum values of 883 ± 725 $\mu\text{U/ml}$ were analysed (time $p < 0.001$, treatment $p = 0.344$).

After the four-week supplementation period, a more pronounced reduction in the insulin response could be observed in the animals that had been supplemented with Cr, whereas in the placebo group only a moderate improvement was found in the insulin response. Moreover, the body weight losses observed in both groups seemed to improve metabolic responses to a starch load.

10 Literaturverzeichnis

Ackermann N, Garner HE, Coffmann JR, Clement JW. Angiographic appearance of the normal equine foot and alterations in chronic laminitis. *J Am Vet Med Assoc.* 1975; 166 (1): 58-62.

Adams AA, Katepalli MP, Kohler K, Reedy SE, Stilz JP, Vick MM, Fitzgerald BP, Lawrence LM, Horov DW. Effect of body condition, body weight and adiposity on inflammatory cytokine responses in old horses. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009; 127 (3-4): 286-294.

Alford P, Gellar S, Richardson B. A multicenter, matched case-control study of risk factors for equine laminitis. *Prev Vet Med.* 2009; 49: 209-222.

Anderson RA, Polansky MM, Bryden NA, Roginsky EE, Merz W, Glinsmann W. Chromium supplementation of human subjects: Effects on glucose, insulin, and lipid variables. *Metabolism.* 1983; 32: 894-899.

Anderson RA, Koslovzky AS. Chromium intake, absorption and excretion of subjects consuming self-selected diets. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41: 768-771.

Anderson RA, Bryden NA, Patterson KY, Veillon C, Andon M, Moser-Veillon P. Breast milk chromium and its association with chromium intake, chromium excretion and serum chromium. *Am J Clin Nutr.* 1993; 57: 519-52.

Anderson RA. Stress effects on chromium nutrition of humans and farm animals. *Hormone Res.* 1994; 41 (12): 51-55.

Anderson RA. Chromium and parenteral nutrition. *Nutr.* 1995; 11: 83-86.

Anderson RA. Chromium, glucose tolerance, diabetes and lipid metabolism. *J Adv Med.* 1995; 8: 37-49.

Anderson RA, Cheng N, Bryden NA, Polansky MM, Chi J, Feng J. Elevated intakes of supplemental chromium improve glucose and insulin variables in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes.* 1997; 46: 1786-1791.

Ani M, Moshtagi AA. The effect of chromium on parameters related to iron metabolism. *Biol Trace Elem Res.* 1992; 32: 57-64.

Arner R. Resistin: yet another adipokine tells us that men are not mice. *Diabetolog.* 2005; 48: 2203-2205.

Asplin KE, Sillence MN, Pollitt CC, McGowan CM. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Vet J.* 2007; 174: 530-535.

Asplin KE, McGowan CM, Pollitt CC, Curlewis J, Sillence MN. Role of insulin in glucose uptake in the equine hoof. *Vet J.* 2007; 174: 530-535.

Bailey SR, Rycroft A, Elliott J. Production of amines in equine cecal contents in an in vitro model of carbohydrate overload. *J Anim Sci.* 2002; 80: 2656-2662.

Bailey SR, Marr CM, Elliott J. Current research and theories on the pathogenesis of acute laminitis in the horse. *Vet J.* 2004; 167: 129-142.

Bailey SR, Harris P, Elliott J, Longland A. Countermeasures for Pasture-Associated Laminitis in Ponies and Horses. *Am Soc Nutr.* 2006; 136: 2114-2121.

Bailey SR, Menzies-Gow NJ, Harries PA, Habershon-Butcher JL, Crawford C, Berhane Y, Boston RC, Elliott J. Effect of dietary fructans and dexamethasone administration on the insulin response of ponies predisposed to laminitis. *J Am Vet Med Ass.* 2007; 231: 1365-1373.

Bailey SR, Harris A, Elliott J. How can we predict increased risk of laminitis in individual ponies or horses? Today and in the future. Waltham Centre for Pet Nutrition, Waltham-on-the-Wolds, Melton Mowbray, Leicestershire; 2007 LE I 4 4RT, UK.

Bailey SR, Habershon-Butcher JL, Ransom KJ, Elliott J, Menzies-Gow. Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *Am J Vet Res.* 2007; 69: 122-129.

Bandpahyay D, Kusari A, Kenner K, Liu F, Chernoff J, Gustaffon T, Kusari J. Protein-Tyrosine phosphatase 1B complexes with the insulin receptor in vivo and is tyrosin phosphorylated in the presence of insulin. *J Biol Chem.* 1997; 272: 1639-1645.

Barceloux DG. Chromium. *J Toxic Clin Toxicol.* 1999; 37: 173-194.

Baron AD. Insulin and the vasculature old actors new roles. *J Investig Med.* 1995; 44: 406-412.

Bent E, Hambitzer R. Neue Einsatzbereiche eines trocken- chemischen Analysesystem. *Tier-ärztl Wschr.* 1987; 100: 418-422.

Berg AH, Scherrer PE. Adipose tissue, inflammation and cardiovascular disease. *Cir Res.* 1995; 96 (9): 939-949.

Bergmann RN. Toward physiological understanding of glucose tolerance. Minimal-model approach. *Diab.* 1998; 38: 1512-1527.

Biesalski H, Fürst K, Kasper P H, Kluthe R, Pöler W. *Ernährungsmedizin.* Georg Thieme Verlag. 1999; 175-176.

Bloomgarden ZT. Insulin resistance: current concepts. *Clin Ther.* 1998; 20 (2): 216-31.

Blüher M, Engeli S, Klötting N. Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes.* 2006; 55 (11): 3053-3060.

Boden G MD. Obesity, free fatty acids, and insulin resistance. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes.* 2001; 5 (8): 235-239.

Boden WE, O'Rourke RA, Teo KK, Hartigan PM. Optimal Medical Therapy with or without PCI for Stable Coronary Disease. *The New Engl J Med.* 2007; (4): 1503-1516.

- Boden G, Song W, Pashko L, Kreske K. In Vivo Effects of Insulin and Free Fatty Acids on Matrix Metalloproteinases in Rat Aorta. *Diabetes*. 2008; 57 (2): 476-483.
- Bousilka M, Paivani UB, Scherrrer PE. Adiponectin: a relevant player iPPARgamma-agonist-mediated improvements in hepatic insulin sensitivity? *Int J Obes*. 2005; 29 (1): 17-23.
- Bryant NJ, Govers R, James D. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4 *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002; 3 (4): 267-277.
- Buff PR, Dodds AC, Morrison CD, Whitley NC, McFadin EL, Daniel JA, Djiane J, Keisler DH. Leptin in horses: tissue localization and relationship between peripheral concentrations of leptin and body condition. *J Anim Sci*. 2001; 80: 2942-2948.
- Buff PR, Whitley NC, McFadin-Buff EL. Dose dependent decrease in feed intake following intravenous injection of urocortin into pony mares. *J Anim Sci*. 2001; 78 (1): 149.
- Buff PR, Morrison CD, McFadin-Buff EL. Diurnal and fasting effects on plasma leptin concentrations in pony mares. *Equine Nutr Physiol Soc Symp*. 2001; 41.
- Buff PR, Morrison CD, McFadin EL. Effects of melatonin implants on plasma concentrations of leptin and body weight in obese pony mares. *Anim Sci*. 2001; 79: 209.
- Bujalska IJ, Kumar S, Steward PM. "Does central obesity reflect "Cushing`s disease of the omentum?" *Lancet*. 1997; 349: 1210-13.
- Bunting LD, Fernandez JM, Thompson DL, Southern JR and LL. Influence of chromium picolinate on glucose usage and metabolic criteria in growing Holstein calves. *J Anim Sci*. 1994; 72: 1591.
- Burcelin R, Crivelli V, Perrin CH, Da Costa A, Mu J, Kahn BB, Birnbaum MJ, Kahn CR, Vollenweider R, Thorens B. Glut 4 AMP Kinase but not the insulin receptor are required for hepatoportal glucose sensostimulated muscle glucose utilization. *J Clin Invest*. 2003; 111(10): 1555-1562.
- Cammisotto PG, Bukowiecki LJ. Mechanisms of leptin secretion from white adipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002; 283: 244-250.
- Campell WW, Joseph JO, Davey SL, Campell D, Anderson RA, Evans WJ. Effects of resistance training and chromiumpicolinate on body composition and skeletal muscle in older men. *J Appl Physiol*. 1999; 86: 29-39.
- Carter JP, Kattap A, Abd-El-Hadi K, Davis JT. Apochromodulin can accept chromic ions from biological molecules. (Unpublished) 1968.
- Carter RA, Geor RJ, Burton D, Staniar W, Cubitt TA, Harris PA. Apparent adiposity assessed by standardised scoring systems and morphometric measurements in horses and ponies. *Vet J*. 2009; 179 (2): 204-210.

Carter RA, Treiber KH, Geor RJ, Douglas L, Harris PA. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Vet J.* 2009; 41: 171-178.

Carter RA, McCutcheon LJ, George LA, Smith TL, Frank N, Geor RJ. Effects of diet-induced weight gain on insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in horses. *Am J Vet Res.* 2009; 70 (10): 1250-1258.

Carter RA, McCutcheon LJ, Valle E, Meilahn EN, Geor RJ. Effects of exercise training on adiposity, insulin sensitivity and plasma hormone and lipid concentrations in overweight or obese, insulinresistant horses. *Am J Vet Res.* 2010; 71 (3): 314-321.

Cartmill JA, Thompson DL, Gentry LR, Pruett HR, Johnson CA. Effects of dexamethasone, glucose infusion, and propylthiouracil on plasma leptin concentrations in horses. *Domest Anim Endocrinol.* 2002; 24: 1-14.

Cartmill JA, Thompson DL, Storer WA, Gentry LR, Huff NK. Endocrine responses in mares and geldings with high body condition scores grouped by high vs low resting leptin concentrations. *J Anim Sci.* 2003; 81: 2311-2321.

Cartmill JA, Thompson DL, Storer WA, Crowley JC, Huff NK, Waller CA. Effect of dexamethasone, feeding time, and insulin infusion on leptin concentrations in stallions. *J Anim Sci.* 2003; 83: 1875-1881.

Cartmill JA, Thompson DL, Del Vecchio RP, Storer WA, Crowley JC. Leptin secretion in horses: Effects of dexamethasone, gender, and testosterone. *Domest Anim Endocrinol.* 2006 ;31: 197-210.

Castrache VD, Kraemer VV, Franken MA, Kraemer GR, Gimpel T. Serum leptin concentration in women: effect of age, obesity, and estrogen administration. *Fertil Steril.* 1998; 70: 472-477.

Ceddia RB, Somwar R, Maida A, Fang X, Bikopoulos G, Sweeny G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetolog.* 2005; 48: 132-139.

Chen SCN, Tsai A, Dyer IA. Effect of Chelating Agents on Chromium Absorption in Rats. *J Am Nutr.* 1997; 103: 1182-1186.

Christian GD, Knobloch EC, Purdy WC, Merz W. A polarographic study of chromium- insulin-mitochondrial interaction. *Biochem Biophys Acta.* 1963; 66: 420-423.

Chu NF, Spiegelman D, Yu J, Rifai N, Hotamisligil GS, Rimm EB. Plasma leptin concentrations and four-year weight gain among US men. *Int J Obes Relat Met Disord.* 2001; 25: 346-53.

Clancy SP, Clarkson PM, Decheke ME. Effects of chromium picolinate supplementation on body composition, strength, and urinary chromium loss in football players. *Int J Sport Nutr.* 1994; 4: 142-153.

Clodfelder BJ, Upchurch UP, Vincent JB. A comparison of the insulinsensitive transport of chromium in healthy and model diabetic rats. *J Inorg Biochem.* 2004; 98: 522-533.

- Coffmann JR, Colles CM. Insulin tolerance in laminitic ponies. *Can J Comp Med.* 1993; 47: 347-351.
- Correia ML, Rahmouni K. Role of leptin in the cardiovascular and endocrine complications of metabolic syndrome. *Diab Obes Metab.* 2006; 8: 603-610.
- Curat CA, Wegener V, Senegenes C. Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetolog.* 2006; 49 (4): 744-747.
- Davis CM, Sumrall KH, Vincent JB. The biologically active form of chromium may activate a membrane phosphotyrosine phosphatase (PTP). 1996; *Biochem* 35: 12963-12969.
- Davis CM, Royer AC, Vincent JB. Synthetic multinuclear chromium assembly activates insulin receptor kinase activity: functional model for low-molecular-weight chromium-binding substance. *Inorg Chem.* 1997; 36: 5316-5320.
- Davis CM, Vincent JB. Chromium Oligopeptide Activates Insulin Receptor Tyrosine Kinase Activity. *Biochem.* 1997; 36 (15): 4382-4385.
- De Fronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Phys.* 1979; 237: 214-223.
- De Fronzo RA. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidaemia and atherosclerosis. *Neth J Med.* 1997; 50: 191-197.
- De Souza Batista DM, Yang RZ, Lee MJ, Glynn MN, Yu DZ, Pray J, Ndubuizu D, Patil S, Schwarz A, Klingman M. Omentin plasma levels and gene expression are decreased in obesity. *Diab.* 2007; 56 (6): 1655-1661.
- Del Prato S. Role of glucotoxicity and lipotoxicity in the pathophysiology of Type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. *Diab Medic.* 2009; 26:1185-1192.
- Do Canto OM, Sargant T, Liehen J. Chromium 3 metabolism in diabetic patients. Kinetic models of trace element and mineral metabolism. CRC Press Boca Raton. 1995; 205-219.
- Durham AE, Rendle DI, Newton JR. The effect of metformin on measurements of insulin sensitivity and β cell response in 18 horses and ponies with insulin resistance. *Equine Vet J.* 2008; 40: 493-500.
- Eades SC, Fugler LA, Riggs L. Controlling the equine neutrophil: A generator of devastating tissue damage during equine inflammatory disease. *Vet J.* 2008; 178 (1): 3-4.
- Elmfadma, Leitzmann. Ernährung des Menschen. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart. 2004; 279-281.
- Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins C, Ramachandran C, Gresser MJ, Tremblay M, Kennedy B. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the PTP1B gene. *Sci.* 1999; 283: 1544-1548.
- Engeli S, Feldpausch M, Gorzelniak K, Hartwig F, Heintze U, Janke J, Mohlig M, Pfeiffer AF, Luft FC, Sharma AM. Association between adiponectin and mediators of inflammation in obese women. *Diab.* 2003; 52: 942-947.

- Engeli S, Böhnke J, Grozelniak K. Weight loss and the renin- angiotensin- aldosterone system. *Hypertension*. 2005; 45 (3): 356-362.
- Evans JW, Thompson PG, Winget GM. Glucose and insulin biorhythms in the horse. *J S Afr Vet Ass*. 1974; 45: 317-329.
- Evans JW. The Effect of Chromium Picolinate on Insulin Controlled Parameters in Humans. *Int J Biosocial Med Research*. 1989; 11: 153-180.
- Field JR, Jeffcott LB. Equine laminitis-Another hypothesis for pathogenesis. *Med Hypotheses*. 1989; 30: 203-210.
- Fillipatos TD, Dermezis CS, Kiortsis DN, Tselepis AD, Elisaf MS. Increased plasma levels of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obese and overweight patients with metabolic syndrome. *Endocrinol Invest*. 2007; 30 (4): 323-326.
- Firshman AM, Valberg SJ. Factors affecting clinical assessment of insulin sensitivity in horses. *Equine Vet J*. 2007; 39: 567-575.
- Fischoeder A, Meyborg H, Stibenz D, Fleck E, Graf K, Stawowy P. Insulin augments matrix metalloproteinase-9 expression in monocytes. *Cardiovasc Res*. 2007; 73 (4): 841-848.
- Fitzgerald BP. Insulin resistance and inflammatory challenges. *J Equine Vet Sci*. 2004; 24: 128.
- Fernandez-Real M, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev*. 2003; 24: 278-301.
- Fowden AL, Comline RS, Silver M. Insulin secretion and carbohydrate metabolism. *Equine Vet J*. 1984; 16: 239-246.
- Frank N, Elliott SB, Brand LE, Keisler DH. Physical characteristics blood hormone concentrations, and plasma lipid concentrations in obese with insulin resistance. *J Am Vet Med Assoc*. 2006 228: 1383-1390.
- Frank N. How to feed horses with endocrine disorders. *AAEP Proceedings*. 2007; 53: 1-7.
- Frank N. Endocrinopathic laminitis, obesity-associated laminitis, and pasture- associated laminitis. *J Anim Sci*. 2008; 85: 1144-1155.
- Frank N, Geor RJ, Bailey SR, Durham AE, Johnson PJ. *ACVIM Consensus Statement*. 2009; *Equine Metabolic Syndrome*.
- Frauchinger MT, Wenk C, Colombani PC. Effects of Acute Chromium Supplementation on Postprandial Metabolism in Healthy Young Men. *J Am Coll Nutr*. 2004; 23 (4): 351-357.
- Freestone JF, Wolfsheimer KJ, Kamerlinge SG, Church G, Hamra J, Bagwell C. Exercise induced hormonal and metabolic changes in Thoroughbred horses: Effects of conditioning and Acepromazine. *Equine Vet J*. 1991; 23: 219-223.

- Freestone JF, Beadle R, Shoemaker K, Bessin RT, Wolfsheimer KJ, Church C. Improved insulin sensitivity in hyperinsulinaemic ponies through physical conditioning and controlled feed intake. *Equine Vet J.* 1992; 24: 187-190.
- French KR, Pollitt CC. Equine laminitis: loss of hemidesmosomes in hoof secondary epidermal lamellae correlates to dose in an oligofructose induction model: an ultrastructural study. *Equine Vet J.* 2004; 36: 230-235.
- French KR, Pollitt CC. Equine laminitis: glucose deprivation and MMP activation induce dermo-epidermal separation in vitro. *Equine Vet J.* 2004; 36(3): 261-266.
- Freund H, Atamian S, Fischer JE. Chromium deficiency during total parenteral nutrition. *JA-MA.* 1979; 241 (5): 496-498.
- Furchgott RF. Endothelin-derived relaxinf factor: Discovery, early studies and identification as nitric oxid. *Biosci Rep.* 1999; 19: 235-251.
- Garcia MC, Beech J. Equine intravenous glucose tolerance test: glucose and insulin responses of healthy horses fed grain or hay and of horses with pituitary adenoma. *Am J Vet Res.* 1986; 47: 570-572
- Gargas ML, Norton RL, Paustenbach TJ, Finley BL. Urinary Excretion of Chromium by Humans Following Ingestion of Chromium-picolinate. *D Met and Disp.* 1994; 22: 522-529.
- Garner HE, Coffman JR, Hahn AW, Salem C, Johnson JR. Arterial pressure, cardiac output, plasma volume and L-lactate changes in equine laminitis. *The Physiologist.* 1975a; 18: 224.
- Garner HE, Coffman JR, Hahn AW, Hutcheson DP, Tumbleson MW. Equine laminitis of alimentary origin: an experimental model. *Am J Vet Res.* 1975b; 36: 441.
- Garner HE, Hutcheson DP, Coffmann JR, Halun AW, Salem C. Lactic Acidosis: a Factor Associated with Equine Laminitis. *J Anim Sci.* 1997; 45: 1037-1041.
- Gentry LR, Thompson DL, Fernandez JM, Smith LA, Horokov DW, Leise BS. Effects of chromium tripicolinate supplementation on plasma hormones and metabolite concentrations and immune function in adult mares. *J Equine Vet Sci.* 1999; 19: 259-265.
- Gentry LR. Body Condition, Leptin, and Reproductive Characteristics of Horses. Ph.D. Dissertation, Louisiana State University, Baton Rouge, LA. 2001.
- Gentry LR, Thompson DL, Gentry GT JR, Davis KA, Godke RA. High versus low body condition in mares: Interactions with responses to somatotropin, GnRH analog and dexamethasone. *J Anim Sci.* 2002a; 80: 3277-3285.
- Gentry LR, Thompson DL, Gentry GT JR, Davis KA, Godke RA, Cartmill JA. The relationship between body condition, leptin, and reproductive and hormonal characteristics of mares during the seasonal anovulatory period. *J Anim Sci.* 2002b; 80: 2695-2703.
- Geor RJ, Harris P. Dietary management of obesity and insulin resistance: countering risk for laminitis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2009; 25: 51-65.

- Ghizzoni L, Mastorakos G, Zieveri S, Furlini M, Solazzi A, Vottero A, Bernasconi S. Interactions of leptin and thyrotropin 24-hour secretory profiles in short normal children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 2065-2072.
- Ghizzoni L, Mastorakos G, Street M, Mazzardo G, Vottero A, Vanelli M, Bernasconi S. Leptin, Cortisol, and GH Secretion Interactions in Short Normal Prepubertal Children. *J Clin Endocrinol Metabolism.* 2001; 86 (8): 3729-3734.
- Goldstein BJ, Scalia R.
Adiponectin: A Novel Adipokine Linking Adipocytes and Vascular Function. *J Clin Endocrinol Metabolism.* 2004; 89 (6): 2563-2568.
- Good M, Newell MF, Haupt LM, Whitehead JP, Hutley LJ, Prins JB. TNF and TNF receptor expression and insulin sensitivity in human omental and subcutaneous adipose tissue-influence of BMI and adipose distribution. *Diab Vasc Dis Res.* 2006; 3: 26-33.
- Greene SA, Thurmon JC, Tranquilli WJ, Benson GJ. Effect of yohimbine on xylazine-induced hypoinsulinemia and hyperglycemia in mares. *Am J Vet Res.* 1987; 48: 676- 678.
- Green A, Basile R, Rumber G, John M. Transferrin and iron induce insulin resistance of glucose transport in adipocytes. *Metabol Clin Experiment.* 2006; 55: 1042-1045.
- Haas M, Sawaf R, Horani M, Gobal F, Wong N, Mooradian A. Effect of chromium on apolipoprotein A-I expression in HepG2 cells. *Nutr.* 2003; 19: 353 -357.
- Hahn A, Evans GW. Absorption of trace metals in the zinc-deficient rat. *Am J Physiol.* 1975; 228 (4): 1020-1023.
- HAHN A. Nahrungsergänzungsmittel. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart. 2001; 180-182.
- Haffner SM; Valdez RA; Hazuda HP; Mitchell BD; Morales PA; Stern MP. Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diab.* 1992; 41 (6): 715-722.
- Hanefeld M, Leonhardt T W. Das Metabolische Syndrom. *Dt Gesundh Wesen.* 1981; 36: 545-551.
- Harris P, Bailey SR, Elliott J, Longland A. Countermeasures for Pasture-Associated Laminitis in Ponies and Horses. *Am Soc Nutrition J Nutr.* 2006; 136: 2114-2121.
- Heilbronn L, Smith SR, Ravussine E. Failure of fat cell proliferation, mitochondrial function and fat oxidation results in ectopic fat storage, insulin resistance and type II diabetes mellitus. *In J Obes.* 2004; 28: 12-21.
- Henneke DR, Potter GD, Kreidler JL, Yeates BF. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Vet J.* 1983; 15: 371-376.
- Hess TM, Treiber KH, Kronfeld DS, Furr MO. Insulin resistance demonstrated by a specific quantitative method in a hyperlipemic laminitic pony. *J Equine Vet Sci.* 2006; 26: 271-274.

- Himsworth HP, Kerr RB. Insulin-sensitive and insulin-insensitive types of diabetes mellitus. *Clin Sc.* 1939; 4: 119.
- Hinckley KA, Fearn S, Howard BR, Henderson IW. Glyceryl trinitrate enhances nitric oxide mediated perfusion within the equine hoof. *J Endocrinol.* 1996; 151: 1-8.
- Hinckley KA, Fearn S, Howard BR, Henderson IW. Nitric oxide donors as treatment for grass induced acute laminitis in ponies. *Equine Vet J.* 1996; 28: 17-28.
- Hoffmann KL, Wood AK, Griffiths KA, Evans DL, Gill RW, Kirby AC. Postprandial arterial vasodilatation in the equine distal thoracic limb *Equine Vet J.* 2001; 33: 269-273.
- Hoffmann RM, Boston RC, Stefanovski D. Obesity and diet affect glucose dynamics and insulin sensitivity in Thoroughbred gelding. *J Anim Sci.* 2003; 81: 2333-2342.
- Hong W, Kruszewski A, Brautigan DL. Cellular Chromium Enhances Activation of Insulin Receptor Kinase. *Biochem.* 2005; 44: 8167-8175.
- Hood DM, Amoss MS, Hightower D, McDonald DR, McGrat JP, McMullan WC, Scritchfield WL. Equine laminitis 1: Radioisotopic analysis of the hemodynamics of the foot during the acute disease. *J Equine Med Surg.* 1978; 2: 439-444.
- Hopkins LL JR. Distribution in the Rat of Physiological Amounts of Injected Cr(III) with Time. *Am J Physiol.* 1965; 209: 731-735.
- Hotamisigil GS, Spielman BM. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diab.* 1994; 43: 1271-8.
- Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeyer HK, Arita Y, Hansen BC Matsuzawa Y. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diab.* 2001; 50: 1126-1133.
- Houseknecht KL, Spurlock ME. Leptin regulation of lipid homeostasis: dietary and metabolic implications. *Nutr Res Rev.* 2003; 16: 83-96.
- Hsueh WA, Bruemer D. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor: Implications for Cardiovascular Disease. *Proc Nat Acad Sci.* 1998; 95: 7614-7619.
- Hug C, Lodish HF. The role of the adipocyte hormone adiponectin in cardiovascular disease. *Curr opin Pharmacol.* 2005; 5 (2): 129-134.
- Inceli M, Bolkent S, Doger M, Yanardag R. The effects of combined treatment with niacin and chromium on the renal tissues of hyperlipidemic rats. *Mol Cell Biochem.* 2007; 294: 37-44.
- Isozaki O, Tsushima T, Miyakawa M, Demura H, Seki H. Interaction between leptin and growth hormone (GH)/IGFI axis. *Endocr J.* 1999; 46: 17-24.
- James DE, Brown R, Navarro J, Pilch PF. Insulin-regulatable tissues express a unique insulin-sensitive glucose transport protein. *Nat.* 1988; 333: 183-185.

- Jeejeebhoy KN, Chu RC, Marliss EB, Greenberg GR, Robertson A. Chromium deficiency, glucose intolerance and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving long-term total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1977; 30 (4): 531-538.
- Jeffcott LB, Field JR. Epidemiological aspects of hyperlipaemia in ponies in south eastern Australia. *Aust Vet J.* 1985a; 62: 140-141.
- Jeffcott LB, Field JR. Current concepts of hyperlipaemia in horses and ponies. *Vet Rec.* 1985b; 116: 461-466.
- Jeffcott LB, Field JR, McLean JG, O'Dea K. Glucose tolerance and insulin sensitivity in ponies and Standardbred horses. *Equine Vet J.* 1986; 18: 97-191.
- Johnson PJ, Messer NT, Ganjam VK. Cushing's syndromes, insulin resistance and endocrinopathic laminitis. *Equine Vet J.* 2004; 36 (3): 194-198.
- Johnson PJ. The equine metabolic syndrome, peripheral Cushing's syndrome. *Vet Clin Equine.* 2002; 18: 193-271.
- Johnson PJ, Ganjam VK, Messer NT. Cutaneous 11 β -hydroxysteroiddehydrogenase activity is reduced in the laminitis horse. *Proceedings 14th ACVIM Forum. San Antonio, Texas, USA.* 1986; 735.
- Johnson PJ, Slight SH, Ganjam VK. Glucocorticoids and laminitis in the horse. *Vet Clin Equine.* 2002; 18: 277-294.
- Johnson PJ, Slight SH, Ganjam VK. Laminitis "hypothyroidism." and obesity: a peripheral Cushingoid syndrome in horses? *Proceeding of the Animal Forum of the American College of Veterinary Internal Medicine, Lakewood (CO).* 1999; 192-194.
- Johnson PJ, Tyagi SC, Katwa LC. Activation of extracellular matrix metalloproteinases in equine laminitis. *Vet Rec.* 1998; 142: 392-396.
- Juan CC, Fang VS, Huang YJ, Kwok CF, Hsu YP, Ho LT. Endothelin-1 induces insulin resistance in conscious rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 227: 694-699.
- Juan CC, Shen YW, Chien Y, Lin YL, Chang SF, Ho LT. Insulin Infusion Induces Endothelin-1-Dependent Hypertension in Rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2004; 287: 948-954.
- Kaats GR, Blum K, Fisher JA. Effects of chromium picolinate supplementation on body composition: a randomized doublemasked placebo-controlled study. *Curr Ther Res.* 1996; 57: 747-756.
- Kahn CR. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: A necessary distinction. *Metabolism.* 1978; 27: 1893-1902.
- Kahn BB. Facilitative glucose transporters: regulatory mechanisms and dysregulation in diabetes. *J Clin Invest.* 1992; 89 (5): 1367-1374.
- Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanism linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2004; 444 (7121): 840-846.

- Kaplan NM. The deadly quartet. Upper body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia and hypertension. *Arch Intern Med.* 1989; 149: 1514-1520.
- Kasper H. *Ernährungsmedizin und Diätetik.* Urban & Fischer Verlag Elsevier GmbH, München. 2004; 66.
- Katwa LC, Johnson PJ, Ganjam VK, Kreeger JM, Messer NT. Expression of endothelin in equine laminitis. *Equine Vet.* 1999; 31: 243-247.
- Kearns CF, McKeever KH, Roegner V, Brady SM, Malinowski K. Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. *Vet J.* 2005; 172: 396-397.
- Kearns CF, McKeever KH, Roegner V, Brady SM, Malinowski K. Adiponectin and leptin are related to fat mass in horses. *Vet J.* 2005b; 172(3): 460-465.
- Keen JA, McLaren M, Chandler KJ, McGorum BC. Biochemical indices of vascular function, glucose metabolism and oxidative stress in horses with equine Cushing's disease. *Equine Vet J.* 2004; 36: 226-229.
- Kenner KA, Anyanwu E, Olefsky F, Kusari J. PTP1B is a negative regulator of insulin- and insulin-like growth factor-I-stimulated signalling. *J Biol Chem.* 1996; 271: 19810-19816.
- Kern P, Saghizadeh M, Ong J, Bosch R, Deem R, Simsolo R. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Investig.* 1995; 95: 2111-2119.
- Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. Adipose tissue, tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005; 280: 745-751.
- Kihara Y, Murakami T, Tomita T, Inoko M, Sasayama S. Transition to overt heart failure in Dahl salt-sensitive rats is preceded by G-protein-mediated β -adrenergic desensitization. *Pathophysiol.* 1994; 1: 306.
- Kim JA, Montagnani M, Koh K, Quon M. Reciprocal Relationships Between Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction: Molecular and Pathophysiological Mechanisms. *Circulation.* 2006; 113 (15): 1888-1904.
- Klamann D, Boss O, Peroni O, Kim J, Martino J, Zabolty J, Mogal N, Lubkin M, Kim Y, Sharpe A, Stricker-Kronrand A, Shulmann G, Neel B, Kahn B. Increased energy expenditure, decreased adiposity, and tissue-specific insulin sensitivity in PTP1 deficient mice. *Mol Cell Biol.* 2000; 20: 5479-5489.
- Kolb E. Der Stoffwechsel der Glukose und der Fettstoffe beim Pferd, unter besonderer Berücksichtigung der Hyperlipidämie. *Mh Vet-Med.* 1983; 38: 429-436.
- Koplias M, Dang L, Anderson H. Effect of dietary chromium on resistance artery function and nitric oxide signalling in the sucrose-fed spontaneously hypertensive rat. *J Vasc Res.* 2007; 44: 110-118.

- Kozka IJ, Clark AE, Reckless JP, Cushman SW, Gould GW, Holman GD. The effect of insulin on the level and activity of the GLUT-4 present in human adipose cells. *Diabetolog.* 1995; 38 (6): 661-666.
- Kronfeld DS, Harris PA. Equine associated disorders. *J Equine Vet Sci.* 2003; 23 (12):567-569.
- Kronfeld DS, Treiber KH, Geor RJ. Comparison of nonspecific indications and quantitative methods for the assessment of insulin resistance in horses and ponies. *J Am Vet Med Assoc.* 2005; 226: 712-719.
- Kronfeld DS. Insulin resistance predicted by specific proxies. *J Equine Vet Sci.* 2006; 26: 281-284.
- Kronfeld DS, Treiber KH, Hess TM, Splan RK, Byrd BM, Staniar B, White N. Metabolic syndrome in healthy ponies facilitates nutritional countermeasures against pasture laminitis. *Am Soc Nutr.* 2006; 136: 2090-2093.
- Kylin E. Studien über das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämie-Syndrom. *Zentralb Inn Med.* 1923; 44: 105-127.
- Lamounier-Zepter V, Ehrhardt-Bornstein M, Bornstein SR. Insulin resistance in hypertension and cardiovascular disease. *Best pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2006; 20: 355-367.
- Larsson H, Ahren B. Short-term dexamethasone treatment increases plasma leptin independently of changes in insulin sensitivity in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 4428-4432
- Longland AC, Byrd BM. Pasture nonstructural carbohydrates and equine laminitis. *J Nutr.* 2006; 136: 2099-2102.
- Longland A, Cairns A. Sugars in grass-an overview of sucrose and fructan accumulation in temperate grasses. 1st Dodson and Horrell International Conference on Laminitis. Stoneleigh, UK. 1998; 1-3.
- Longland A, Cairns A, Huphreys M. Seasonal and diurnal changes in fructan concentration in *Lolium perenne*: implications for the grazing management of equines predisposed to laminitis. 16th Equine Nutritional Physiology Society Symposium Raleigh. 1999; 258-259.
- Longland A, Byrd BM. Pasture non-structural carbohydrates and equine laminitis. *J of Nutr.* 2006; 136: 2099-2102.
- Lukaski HC, Bolonchuk WW, Siders WA, Mile DB. Chromium supplementation and resistance training: effects on body composition, strength and trace element status of men. *Am J Clin Nutr.* 1996; 63: 954-965.
- Lukaski HC. Chromium as a supplement. *Annu Rev Nutr.* 1999; 19: 279-302.
- Mackenzie RD, Anwar RA, Byerrum RU, Hoppert CA. Absorption and distribution of Cr51 in the albino rat. *Arch Biochem Biophysiol.* 1959; 15: 200-205.

- Maeda N, Shimura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, Furujama M, Kondo H, Takahashi M. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med.* 2002; 8 (7): 731-737.
- Marks G, Budras KD. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen über die akute Hufrehe des Pferdes. *Berl Münch Tierärztl Wschr.* 1987; 100: 82-88.
- Martin J, Wang Z, Zhang X, Wachtel D, Volaufvova J, Matthews D, Cefalu W. Chromium picolinate supplementation attenuates body weight gain and increases insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes. *Diab Care.* 2006; 29: 1826-1832.
- Masuzaki H, Paterson J, Shinyama H, Morton NM, Mullins JJ, Seckl JR, Flier JS. A transgenic model of visceral obesity and the metabolic syndrome. *Sci.* 2001; 294: 2166-2170.
- McGowan CM, Neiger R. Efficacy of trilostane in the management of equine Cushing's disease. *Proceeding, 40th Congress of the British Equine Veterinary Association, Newmarket, Englan.* 2001; 218.
- McGowan CM, Frost R, Pfeiffer U, Neiger R. Serum insulin concentration in horses with Equine Cushing's syndrome: prognostic value and response to a cortisol inhibitor. *Equine Vet J.* 2004; 36 (3): 295-298.
- McGowan CM. Role of insulin in endocrinopathic laminitis. *J Equine Vet Sci.* 2008; 28: 603-607.
- McGowan CM, Geor RJ, McGowan TW. Prevalence and risk factors for hyperinsulinemia in ponies. *J Vet Intern Med.* 2008; 22.
- McKellar QA, Nolan AM, Galbraith EA. Serum thromboxane generation by platelets in several domestic animal species. *Br Vet J.* 1990; 146: 398-404.
- Merz W. Chromium in human nutrition: a review. *J Nutr.* 1993; 123: 626-633.
- Metcalf JA, Weekes TEC. Effect of feeding level on insulin sensitivity during lactation in the ewe. *Proc Nutr Soc.* 1988; 47: 151A
- Miell JP, Englaro P, Blum WF. Dexamethasone induces an acute and sustained rise in circulating leptin levels in normal human subjects. *Horm Metab Res.* 1996; 28: 704-707.
- Mogg TD, Palmer JE. Hyperlipidemia, hyperlipemia and hepatic lipidosis in American Miniature Horses: 23 cases (1990-1994). *J Am Vet Med Assoc.* 1995; 207 (5): 604-607.
- Montague D, O'Rahilly S. The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diab.* 2000; 49: 883-888.
- Mooradian AD, Failla M, Hoogwerf B, Maryniak M, Wylie-Rosett J. Selected vitamins and minerals in diabetes. *Diab Care.* 1994; 17: 464-479.
- Moore BR, Abood SK, Hinchcliff KW. Hyperlipemia in 9 Miniature Horses and Miniature Donkeys. *J Vet Int Med.* 1994; 8 (5): 376-381.

- Moshtagi AA, Ani A. Comparative Binding Study of Aluminium and Chromium to Human Transferrin. *Biol Trace El Res.* 1992; (32): 39-145.
- Mueckler M. Facilitative glucose transporters. *Europ J Biochem.* 1994; 219: 713-72.
- Murphy D, Reid SWJ, Love S. The effect of age and diet on the oral glucose tolerance test in ponies. *Equine Vet J.* 1997; 29: 467-470.
- Nielsen S, Guo Z, Johnson CM. Splanchnic lipolysis in human obesity. *J Clin Invest.* 2004; 113 (11): 1582-1588.
- Oki K; Yamane K, Kamei N, Nojima H, Kohno N. Circulating visfatin level is correlated with inflammation, but not with insulin resistance. *Clin. Endocrinol.* 2007; 67 (5): 796-800.
- Oreste G, Lago F, Garcia M, Menendez C, Senaris R, Casanueva FF, Dieguez C. Polactin Stimulates Leptin Secretion by Rat White Adipose Tissue. *Endokrin.* 1999; 140 (11): 5149-5153.
- Onkelinx C. Compartment Analysis of Metabolism of Chromium (III) in Rats of Various Ages. *Am J Physiol.* 1977; 232: 478-484.
- Ott EA, Kivipelto J. Influence of chromium tripicolinate on growth and glucose metabolism in yearling horses. *J Anim Sci.* 1999; 77 (11): 3022-3030.
- Pagan JD, Rotmensen T, Jackson SG. The effect of chromium supplementation on metabolic response to exercise in Thoroughbred horses. *Biotechnology in the Feed Industry.* 1995; 249-256.
- Passman WJ, Westerterp-Plantenga MS, Saris WHM. The effectiveness of long-term supplementation of carbohydrate, chromium, fibre, and coffee on weight maintenance. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997; 21: 1143-1151.
- Pass MA, Pollitt S, Pollitt CC. Decreased glucose metabolism causes separation of hoof lamellae in vitro: a trigger for laminitis? *Equine Vet J Suppl.* 1998; (26): 133-138.
- Patel JV, Cummings DE, Girod JP, Mascarenhas AV, Hughes EA, Gupta M, Lip GYH, Reddy S, Brotman DJ. Role of metabolically active hormones in the insulin resistance associated with short-term glucocorticoid treatment. *J Negat Results Biomed.* 2006; 5: 14.
- Pineiro V, Casabiell X, Peino R, Lage M, Camina JP, Menendez C, Baltar J, Dieguez C, Casanueva F. Dihydrotestosterone, stanozolol, androstenedione and dehydroepiandrosterone sulphate inhibit leptin secretion in female but not male samples of omental adipose tissue in vitro: lack of effect of testosterone. *J Endocrinol.* 1999; 160: 425-432.
- Pollitt CC, Mollyneux GS. A scanning electron microscopical study of the dermal microcirculation of the equine foot. *Equine Vet J.* 1990; 22: 79-81.
- Pollitt CC. The basement membrane at the equine hoof dermal epidermal junction. *Equine Vet J.* 1994; 26 (5): 399-407.
- Pollitt CC. Basement membrane pathology: A feature of acute laminitis. *Equine Vet J.* 1996; 28: 38-46.

- Pollitt CC, Daradka M. Equine laminitis basement membrane pathology: Loss of type IV collagen, type VII collagen and laminin immunostaining. *The Equine Hoof: Equine Vet J Suppl.* 1998; 27: 139-144.
- Pollitt CC, Pass MA, Pollitt S. Batimastat (BB-94) inhibits matrix metalloproteinases of equine laminitis. *The Equine Hoof: Equine Vet J Suppl.* 1998; 26: 119-124.
- Pollitt CC. Equine laminitis: Current concepts of inner hoof wall anatomy, physiology and pathophysiology. *Large Anim Proc Ann Amer Coll Vet Surg Symp.* 1999; 175-180.
- Pollitt CC, Van Eps AW. Equine laminitis: A new induction model based on alimentary overload with fructan. *Proc Aust Equine Vet Assoc.* 2003; 98-99.
- Polzer J, Slater MR. Age, breed, sex and seasonality as risk factors for equine laminitis. *Prev Vet Med.* 1996; 29: 179-184.
- Potenza MV, Mechanik JI. The metabolic syndrome: definition, global impact, and pathophysiology. *Nutr Clin Pract.* 2009; 24 (5): 560-577.
- Potter GD, Arnold FF, Householder DD, Hansen DH, Brown KM. Digestion of starch in the small or large intestine of the equine. *Pferdeheilkunde Sonderausgabe.* 1992; 107-111.
- Powell DM, Reedy SE, Session DR, Fitzgerald BP. Effect of short-term exercise training on insulin sensitivity in obese and lean mares. *Equine Vet J Suppl.* 2002; 34: 81-84.
- Pratt SE, Geor RJ, McCutcheon LJ. Repeatability of 2 methods for assessment of insulin sensitivity and glucose dynamics in horses. *J Vet Int Med.* 2005; 19: 883-888.
- Pratt SE, Geor RJ, McCutcheon LJ. Effects of dietary energy source and physical conditioning on insulin sensitivity and glucose tolerance in standardbred horses. *Equine Vet J Suppl.* 2006; 36: 579-584.
- Proctor S, Kelly S, Stanhope K, Havel P, Russel J. Synergistic effects of conjugated linoleic acid and chromium picolinate improve vascular function and renal pathophysiology in the insulin-resistant JCR: LA-cp rat. *Diab Ob Metab.* 2007; 9: 87-95.
- Prolo P, Wong ML, Licinio L. Leptin. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998; 30: 1285-1290.
- Rabe K. Adipokine and insulin resistance. *Mol Med* 2008; 14: 741-751
- Rajala MW, Obici S, Scherrer PE, Rosetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest.* 2003; 111: 225-230.
- Ralston SL, Baile CA. Review of factors controlling feed intake in ponies. *Neurosci Biobehav Rev.* 1983; (7): 465-470.
- Ralston SL, Nockels CF, Squires EL. Differences in diagnostic test results and hematologic data between aged and young horses. *Am Medic J Vet Res.* 1988; 49 (8): 1387-1392.

- Ralston SL. Postprandial hyperglycemia/insulinemia in young horses with osteochondritis dissecans lesions. *J Anim Sci.* 1995; 73: 184.
- Ralston SL. Insulin and Glucose Regulation. *Vet Clin N Am Eq Prac.* 2002; 18: 295-304.
- Ralston SL. Hyperinsulinemia and glucose intolerance. *Equine Int Med.* 2004; 1599-1603.
- Ralston SL. Factors affecting glucose and insulin metabolism in young horses. *Pferdeheilkunde.* 2005; 21: 83-86.
- Ramsay TG, White ME. Insulin regulation of leptin expression in streptozotocin diabetic pigs. *Anim Sci.* 2000; 78: 1497-1503.
- Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93: 64-73.
- Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diab.* 1988; 37: 1595-1607.
- Reeves HJ, Lees R, McGowan CM. Measurement of basal serum insulin concentration in the diagnosis of Cushing's disease in ponies. *Vet Rec.* 2001; 149: 449-452.
- Reimers TJ, Cowan RG, Davidson HP, Colby ED. Validation of Radioimmunoassays for triiodothyronine, Thyroxine und hydrocortisone (cortisol) in canine, feline and equine sera. *Am J Vet Res.* 1981; 42: 2016-2021.
- Rice SL Koehler PE. Tyrosine and histidine decarboxylase activities of *Pediococcus cerevisiae* and *Lactobacillus* species and the production of tyramine in fermented sausages. *J Milk Food Technol.* 1976; 38: 256-258.
- Richards N, Hinch GN, Rowe JB. The effect of current grain feeding practices on hindgut starch fermentation and acidosis in the Australian racing Thoroughbred. *Austr Vet J.* 2006; 84 (11): 402-407.
- Rijnen KE, Van Der Kolk JH. Determination of reference range values indicative of glucose metabolism and insulin resistance by use of glucose clamp techniques in horses and ponies. *Am J Vet Res.* 2003; 64: 1260-1264.
- Rizza RA, Mandarino LJ, Gerich JE. Mechanisms of insulin resistance in man. *Am J Med.* 1981; 70: 169-176.
- Roden M, Price TB, Perseghin G, Petersen KF, Rothman DL, Cline GW, Shulman GI. Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest.* 1996; 97 (12): 2859-2865.
- Rugh KS, Garner HE, Sprouse RF, Hatfield DG. Left ventricular hypertrophy in chronically hypertensive ponies. *Lab Anim Sci.* 1987; 37: 335-338.
- Sanchez-Margalet V, Martin-Romero C, Santos-Alvarez J, Goberna R, Najib S, Gonzales-Yanes C. Role of leptin as an immunomodulator of blood mononuclear cells: mechanisms of action. *Clin Exp Immunol.* 2003; 133: 11-19.

- Sandeep TC, Walker BR. Pathophysiology of modulation of local glucocorticoid levels by 11beta-hydroxysteroid dehydrogenases. *Endocrinol Metab.* 2001; 12: 446-453.
- Sargent T, Lim TH, Jenson RL. Reduced chromium retention in patients with hemochromatosis, a possible basis of hemochromatotic diabetes. *Metabolism.* 1979; 28: 70-79.
- Schiekofer S, Balletshofer B, Andrassy M, Bierhaus A, Nawroth PP. Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Semin Thromb Hemost.* 2000; 26: 503-511.
- Schmidt O, Deegen E, Fuhrman H, Dühlmeier R, Sallmann HP. Effects of Fat Feeding and Energy Level on Plasma Metabolites and Hormones in Shetland Ponies. *J Vet Med.* 2001; 48 (1): 39-49.
- Schwarz K, Mertz W. Chromium(III) and glucose tolerance factor. *Arch Biochem Biophys.* 1959; 85: 292-295.
- Session DR, Reedy SE, Vick MM, Murphy BA, Fitzgerald BP. Development of a model for inducing transient insulin resistance in the mare: Preliminary implications regarding the estrous cycle. *J Anim Sci.* 2004; 82: 2321-2328.
- Shulmann GI. Cellular mechanism of insulin resistance. *J Clin Invest.* 2000; 106: 171-176.
- Singer G, Geohas J. The effect of chromium picolinate and biotin supplementation on glycemic control in poorly controlled patients with type 2 diabetes mellitus: A placebo-controlled, double-blinded, randomized trial. *Diab Techn Therap.* 2006; 8: 636-643.
- Sivitz WI, Walsh S, Morgan D, Donohouhe P, Haynes W, Leibel RL. Plasma leptin in diabetic and insulin-treated diabetic and normal rats. *Metabolism.* 1998; 47: 584-591.
- Spiegelmann BM, Flier JS. Rounding out the big picture. *Cell.* 1966; 87: 377-389.
- Spiegelmann BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell.* 2001; 104: 531-543.
- Splan RK, Kronfeld DS, Treiber KH, Hess TM, Staniar WB. Genetic predisposition for laminitis in ponies. *Proceedings of the 19th Symposium of the Equine Science Society.* 2005; 219-220.
- Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron A. Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest.* 1994; 94: 1172-1179.
- Steele NC, Althen G, Frobish LT. Biological activity of glucose tolerance factor in swine. *J Anim Sci.* 1977; 45: 1341.
- Stephan CM, Bailey ST, Bath S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nat.* 2001; 409 (618): 307-312.
- Stoecker BJ. Chromium Present knowledge in nutrition. ILSI Press. 2001; 366-372.

- Taouis M, Dagou C, Ster C, Durand G, Pinault M, Delarue J. N-3 polyunsaturated fatty acid prevent the defect of insulin receptor signaling in muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 282: 664-671.
- Thörne A, Lönnvist F, Apelman J, Hellers G, Arner P. A pilot study of longterm effects of a novel obesity treatment: omentectomy in connection with adjustable gastric banding. *Int J Obesity.* 2002; 26: 193-199.
- Tiley HA, Geor RJ, Stewart-Hunt L, McCutcheron LJ. Equine skeletal muscle insulin signaling glucose metabolism and GLUT4 expression in a dexamethasone model of insulin resistance. *J Vet Int.* 2006; 20: 785-799.
- Tiley HA, Geor RJ, McCutcheon LJ. Effects of dexamethasone on glucose dynamics and insulin sensitivity in healthy horses. *Am J Vet Res.* 2007; 68: 753-759.
- Ting HH, Timimi H, Boles KS, Creager SJ, Ganz P, Creager MA. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilatation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1996; 97: 22-28.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Hess TM, Boston RC, Harris PA. Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. *Am J Vet Res.* 2005; 66: 2114-2121.
- Treiber KH, Hess TM, Kronfeld DS, Boston RC, Geor RJ, Harris PA. Insulin resistance and compensation in laminitis-predisposed ponies characterized by the minimal model. *Pferdeheilkunde.* 2005; 21: 91-92.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Hess TM, Boston RC, Harris PA. Use of proxies and reference quintiles obtained from minimal model analysis for determination of insulin sensitivity and pancreatic beta-cell responsiveness in horses. *Am J Vet Res.* 2005; 66: 2114-2121.
- Treiber KH, Boston RC, Kronfeld DS, Staniar WB, Harris PA. Insulin resistance and compensation in Thoroughbred weanlings adapted to high-glycemic meals. *Anim Soc Ani Science.* 2005; 83: 2357-2364.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Hess TM, Byrd BM, Splan RK. Pre-laminitic metabolic syndromes in genetically predisposed ponies involves compensates insulin resistance. *J Anim Physiol Ani Nutr.* 2005; 89: 430-431.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Hess TM, Byrd BM, Splan RK, Staniar WB. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *J Am Vet Medi Assoc.* 2006a; 228: 1538-1545.
- Treiber KH, Kronfeld DS, Geor R. Insulin resistance in Equids: Possible role in laminitis. *J Nutr.* 2006; 136: 2094-2098.
- Turk D, Alzai A, Nair KS, Rizza R. The effects of non-insulin-dependent diabetes mellitus on the kinetics of onset of insulin action in hepatic and extrahepatic tissues. *J Clin Invest.* 1995; 95(2): 755-762.

- Uemura S, Matsushita H, Li W, Glassford AJ, Asagami T, Lee K, Harrison DG, Tsao PS. Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity: role of oxidative stress. *Circ Res.* 2001; 88: 1291-1298.
- Unger RH. Lipotoxic diseases. *Annu Rev Med.* 2002; 53: 319-336.
- Utzschneider KM, Carr DB, Hull RI, Kodama K, Shofer JB, Retzlaff BM, Knopp RH, Kahn SE. Impact of intraabdominal fat and age on insulin sensitivity and beta-cellfunction. *Diab.* 2004; 53: 2867-2872.
- Vague J. La differention sexuelle, facteur determinant des formes de l'obesité. *Presse Med.* 1947; 30: 339-340.
- Van Amstel SR, Reyers F, Colly PA. The starch digestion test in the horse. *J S Afr Vet Assoc.* 1984; 55 (3): 119-20.
- Van der Kolk JH, Kalsbeek HC, Van Garderen, Wensing TH, Breuking HJ. Equine pituitary neoplasia: a clinical report of 21 cases. *Vet Rec.* 1993; 133: 594-597.
- Van der Kolk JH, Rijnen KE, Rey F, De Graff-Roelfsma E, Grinwis GC, Wijnberg ID. Evaluation of glucose metabolism in three horses with lower motor neuron degeneration. *Am J Vet Res.* 2005; 66:271-276.
- Van Weyenberg S, Hesta M, Buyse J, Janssen GPJ. The effect of weight loss by energy restriction on metabolic profile and glucose tolerance in ponies. *J Anim Physiol and Anim Nutr.* 2008; 92 (5): 538-545.
- Van Eps AW, Pollitt CC. Equine laminitis induced with oligofructose. *Equine Vet J.* 2006b; 38: 203-208.
- Vervuert I, Cuddenford D, Coenen M. Effects of chromium supplementation on selected metabolic responses in resting and exercising horses. *ECEP.* 2006; 1: 19-27.
- Vervuert I, Voigt K, Hollands T, Cuddeford D, Coenen M. Effect of feeding increasing quantities of starch on glycaemic and insulinaemic responses in healthy horses. *Vet J.* 2009; (182): 67-72.
- Vick MM, Adams AA, Murphy BA, Session DR, Horohov DW, Cook RF, Shelton BJ, Fitzgerald BP. Relationships among inflammatory cytokines, obesity and insulin sensitivity in the horse. *Am Soc Ani Sci.* 2007; 85: 1144-1155.
- Vick MM, Murphy BA, Session DR, Reedy SE, Kennedy EL, Horohov DW, Cook RF, Fitzgerald BP. Effects of systemic inflammation on insulin sensitivity and inflammatory cytokine expression in adipose tissue. *Am J Vet Res.* 2008; 69: 130-139.
- Vick MM, Session DR, Murphy BA. Obesity is associated with altered metabolic and reproductive activity in the mare: effects of metformin on insulin sensitivity and reproductive cyclicality. *Reprod Fertil Dev.* 2006; 18: 609-617.
- Vincent JB. Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance. *J Am Coll Nutr.* 1999; 18: 6-12.

- Vincent JB. The quest for the molecular mechanism of chromium action and its relationship to diabetes. *Nutr Rev.* 2000; 58 (3): 67-72.
- Vincent JB. The bioinorganic chemistry of chromium (III) *Polyhedron. Rep.* 2001; 68: 1-25.
- Vernon RG, Sasaki S. Control of responsiveness of tissues to hormones. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants.* Academic Press, London. 1991; 155-182.
- Wada O, Wu GY, Yamamoto A. Purification and chromiumbinding substances from dog liver. *Environ Res.* 1983; 32: 228-239.
- Walchi S, Churchod M, Gobert R, Arkinstal S, Van Huijsduijnen R. Identification of tyrosine phosphatases that dephosphorylate the insulin receptor. A brute force approach based on "substrate-trapping" mutants. *J Biol Chem.* 2000; 275: 9792-9796.
- Walsh DM, McGowan CM, McGowan TW, Lamb SV, Schanbacher BJ, Place NJ. Correlation of plasma insulin concentration and laminitis score in a field study of equine Cushing's disease and equine metabolic syndrome. *J Equine Vet Sci.* 2009; 29: 87-94.
- Wang JL, Chinokoswong N, Scully S, Qi M, Shi ZQ. Differential effects of leptin in regulation of tissue glucose utilization in vivo. *Endocrin.* 1999; 140: 2117-2124.
- Wang Z, Zhang X, Russel J, Hulver M, Cefalu W. Chromium picolinate enhances skeletal muscle cellular insulin signaling in vivo in obese, insulin-resistant JCR: LA-cp rats. *Am J Nutr.* 2006; 136: 415-420.
- Wangsness PJ, Martin RJ, Gahagang JH. Insulin and growth hormone in lean and obese pigs. *Am J Physiol.* 1977; 233: 104-108.
- Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soelderers JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med.* 1990; 113 (12): 909-915.
- Watson TD, Burns GL, Love S, Packard SL, Shepherd J. Plasma lipids, lipoproteins and post-heparin lipases in ponies with hyperlipaemia. *Equine Vet J.* 1992; 24 (5): 341-346.
- Wattle O, Pollitt CC. Lamellar metabolism. *Proc Clin Tech Equine Pract.* 2004; 13: 22-33.
- Watts KA. Forage and pasture management for laminitic horses. *Clin Tech Equine Pract.* 2004; 3: 88-95.
- Weiss DJ, Johnston G, Trent AM. Microvascular thrombosis associated with onset of acute laminitis in ponies. *Am J Vet Res.* 1994; 55: 606-612.
- Weiss DJ. Equine Laminitis: A review of resent research. *Equine Practice.* 1997; 19: 16-20.
- Weiss DJ, Evanson OA, McClenahan D, Fagliari JJ, Dunnwiddie CT, Wells KE. Effect of a competitive inhibitor of plateled aggregation on experimentally induced laminitis in ponies. *Am J Vet Res.* 1998; 59: 814-816.

Widdowson EM, McCance RA. The determinants of growth and form. *Proc R Soc Lond.* 1974; 185: 1-7.

Widdowson EM, McCance RA. A review: new thoughts on growth. *Pediat Res.* 1975; 9: 154-156.

Wyse CA, McNie KA, Tannahil VJ, Murray JK, Love S. Prevalence of obesity in riding horses in Scotland. *Vet Rec.* 2008; 162 (18): 590-591.

Yamamoto A, Wada O, Ono T. Isolation of a biologically active low-Molecular-mass chromium compound from rabbit liver. *Eur J Biochem.* 1987; 165: 627-631.

Yamamoto A, Wada O, Manabe S. Evidence that chromium is an essential factor for biological activity of low-Molecular-weight, chromium-binding substance. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 163: 189-193.

Yatagi T, Nishida Y, Nasgasaka S, Nakamura T, Tokutama K, Shindo M, Tanaka H, Ishibashi S. Relationship between exercise training-induced increase in insulin sensitivity and adiponectinemia in healthy men. *Endocrin J.* 2003; 50: 233-238.

Zicker SC, Brumbaugh GW. Effects of phenylbutazone on glucose tolerance and on secretion of insulin in healthy geldings. *J Vet Res.* 1989; 50: 743-746.

Zinker B, Rondinone C, Trevillyan J, Gum R, Clampit J, Waring J, Xie N, Wilcox D, Jacobsen P, Frost L, Kroeger P, Reilly R, Koterski S, Opgenorth T, Ulrich R, Crosby S, Butler M, Murray S, McKay R, Bhanto S, Monia B, Jirousek M. PTP1B antisense oligonucleotide lowers PTP1B protein, normalizes blood glucose and improves insulin sensitivity in diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2002; 99: 11357-11362.

11 Anhang

Tabelle 23: Glucosewerte (mmol/l) der Versuchspferde postprandial nach Aufnahme von 1,5g Stärke/kg KM im Vorversuch zu den Zeitpunkten 0 (vor der Fütterung), 1h (1 Stunde nach der Fütterung), 2h (2 Stunden nach der Fütterung) und 3h (3 Stunden nach der Fütterung)

ID	Beh	0- Wert	1h Wert	2h Wert	3h Wert
4	Chrom	5,98	10,2	12,09	11,98
5	Chrom	13,45	17,05	18,67	19,54
7	Chrom	5,75	10,32	13,77	12,53
8	Chrom	5,47	10,99	12,12	11,87
11	Chrom	5,9	10,76	11,34	11,98
12	Chrom	4,7	10,78	13,56	13,12
17	Chrom	6,12	11,54	11,97	9,34
45	Chrom	6,23	11,46	11,08	10,96
57	Chrom	5,32	11,08	12,97	12,22
58	Chrom	5,91	10,55	10,94	13,67
59	Chrom	5,71	8,99	11,98	12,04
60	Chrom	6	10,56	11,07	11,67
64	Chrom	5,32	7,87	12,36	13,14
65	Chrom	5,04	8,78	11,95	11,98
66	Chrom	5,72	9,97	11,74	12,02
2	Placebo	4,56	10,45	11,89	12,64
31	Placebo	5,72	9,19	13,68	13,02
32	Placebo	7,89	12,67	13,9	13,32
33	Placebo	6,34	10,92	13,28	14
34	Placebo	5,52	12,7	13,21	12,89
35	Placebo	5,98	11,23	13,55	13,41
40	Placebo	6,76	12,26	14,06	14,15
41	Placebo	6,04	10,99	11,91	11,8
44	Placebo	7,12	10,87	11,86	11,67
51	Placebo	5,41	10,45	12,08	10,57
52	Placebo	6,31	10,57	11,72	13,5
53	Placebo	5,02	13,27	13,76	14,09

Tabelle 24: BCS für die Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach der Behandlung

ID	Behandlung	BCS vor Versuchsanfang	BCS bei Versuchsende
4	Chrom	7,5	7
5	Chrom	6	6,5
7	Chrom	7,5	7,5
8	Chrom	6,5	6
11	Chrom	7,5	7,5
12	Chrom	7	6,5
17	Chrom	7	7
45	Chrom	8,5	8,5
57	Chrom	8,5	7,5
58	Chrom	8	8
59	Chrom	8	7
60	Chrom	7	6
64	Chrom	7	6,5
65	Chrom	7,5	7
66	Chrom	7	7

Tabelle 25: BCS für die Placebosupplementierung (N = 12) vor und nach der Behandlung

ID	Behandlung	BCS vor Versuchsanfang	BCS bei Versuchsende
2	Placebo	6,5	6,5
31	Placebo	8	8,5
32	Placebo	8,5	8
33	Placebo	7,5	7,5
34	Placebo	8	8
35	Placebo	7	7
40	Placebo	8,5	8
41	Placebo	8,5	8
44	Placebo	7,5	7
51	Placebo	7,5	7
52	Placebo	9	8
53	Placebo	9	8

Tabelle 26: Körpermasse (KM in kg) für die Chromsupplementierung (N = 15) vor und nach der Behandlung

ID	Behandlung	KM vor Versuch	KM nach Versuchsende
4	Chrom	535	503
5	Chrom	580	595
7	Chrom	154	148
8	Chrom	350	320
11	Chrom	242	250
12	Chrom	556	535
17	Chrom	480	476
45	Chrom	533	525
57	Chrom	466	429
58	Chrom	420	413
59	Chrom	236	212
60	Chrom	209	189
64	Chrom	265	246
65	Chrom	400	389
66	Chrom	423	426

Tabelle 27: Körpermasse (KM in kg) für die Placebosupplementierung (N = 12) vor und nach der Behandlung

ID	Behandlung	KM vor Versuch	KM nach Versuchsende
2	Placebo	520	523
31	Placebo	217	228
32	Placebo	575	558
33	Placebo	480	474
34	Placebo	387	385
35	Placebo	245	248
40	Placebo	521	499
41	Placebo	375	356
44	Placebo	475	453
51	Placebo	603	587
52	Placebo	596	568
53	Placebo	546	514

Tabelle 28: Plasmainstinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmzeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung ($N = 15$) vor der Behandlung.

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUCom
4	54,8	196	356	542	732	587	662	750	913	1041	1109	934	1306	1067	1306	360	335206
5	58,3	75,1	98,9	115	120	146	151	175	176	173	163	121	95,0	85,4	176	180	30130
7	237	394	2534	2668	3630	4065	3872	3830	3495	3330	3479	3261	3606	2700	4065	120	1279899
8	281	232	464	958	1233	1349	1631	1923	2114	1960	2436	2616	2119	2460	2616	300	626300
11	66,1	94,2	425	990	910	1307	1363	1496	1396	2045	2185	2121	2262	1803	2262	360	622811
12	5,53	21,3	152	326	415	538	618	629	711	805	792	777	633	615	805	240	239225
17	6,84	97,0	161	163	225	246	391	418	384	288	333	439	453	389	453	360	136836
45	41,0	297	680	916	912	1267	1199	1358	1302	796	460	376	98,9	92,3	1358	180	283376
57	52,1	109	369	442	603	696	915	1053	1142	1493	1790	2041	1829	1764	2041	300	490253
58	29,1	49,3	173	365	491	643	773	1123	1436	1515	1690	1953	1763	1354	1953	300	469389
59	25,8	85,7	853	1331	1215	1169	1338	1597	1874	1969	2305	2131	1710	2135	2305	270	663415
60	26,5	55,5	377	907	995	1141	1390	1802	1991	2383	3206	4354	4835	4677	4835	360	1042199
64	34,7	35,7	193	416	663	816	947	1478	1732	2048	2969	3400	3679	3612	3679	360	805873
65	31,5	30,2	167	236	291	405	478	W.n.v.*	515	476	557	556	489	313	557	270	335206
66	4,81	7,75	31,7	59,3	62,9	75,3	70,2	114	91,5	117	101	95	67,3	59,4	117	240	29935
MW	63,7	118	469	696	833	963	1053	1267	1285	1363	1572	1678	1663	1542	1902		492670
SD	81,9	112	613	665	858	958	910	940	894	936	1157	1334	1464	1393	1444		358231

* Werte nicht vorhanden

Tabelle 29: Plasmainulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmezzeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung ($N = 15$) nach der Behandlung.

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
4	27,5	179	596	667	776	672	656	863	1378	1414	1319	1704	1540	696	1704	300	433576
5	84,9	82,2	91,3	111	132	141	115	90,7	98,5	106	95,4	89,2	114	102	141	120	8963
7	1,41	5,82	310	671	1104	1759	1621	1940	1583	1993	1439	1155	1207	1118	1993	240	530080
8	38,4	261	436	844	1065	1058	1233	1440	1307	1404	2043	1723	2161	1987	2161	360	582918
11	98,3	376	960	1104	1176	1039	1447	1395	1359	1497	1476	1640	1247	988	1640	300	490320
12	10,4	61,5	257	480	590	644	700	814	959	W.n.v.*	1051	1058	1213	686	1213	360	273597
17	8,12	34,0	118	150	204	271	257	393	490	524	467	669	622	599	669	300	169147
45	106	337	473	633	783	791	933	1029	342	34,8	1627	1534	1204	1259	1627	270	342701
57	10,2	127	169	241	339	372	346	458	470	602	725	738	820	50,0	820	300	194955
58	14,1	62,7	52,2	65,9	52,5	41,2	31,7	26,3	25,4	51,0	54,3	35,0	29,7	30,1	65,9	60,0	12007
59	5,77	218	316	453	462	382	302	140	145	65,0	56,3	48,4	47,1	766	766	420	101709
60	3,33	15,0	269	453	501	667	1438	1426	1615	2076	1467	2061	2886	2301	2886	360	631236
64	44,1	58,5	257	394	464	802	769	1526	2007	2049	1940	2126	2157	1961	2157	360	572749
65	39,7	24,6	69,2	94,1	89,2	123	160	162	198	1287	117	110	78,7	67,2	1287	240	433576
66	6,02	9,16	16,2	29,0	21,7	24,3	27,3	23,0	19,3	16,2	24,5	20,8	13,7	13,0	29,0	60,0	5849
MW	33,2	123	293	426	517	586	669	782	800	937	927	981	1023	842	1277		318892
SD	35,7	123	248	317	392	472	554	647	685	819	743	789	900	765	856		224850

* Werte nicht vorhanden

Tabelle 30: Plasmainulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmepunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (N=12) vor der Behandlung.

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
2	6,51	33,0	224	366	422	402	455	599	582	697	594	514	257	269	697	240	174999
31	13,5	21,2	439	655	1083	1522	1594	1706	1669	1590	1577	1471	W.n.v.*	1115	1706	180	373533
32	99,5	209	248	422	464	552	603	725	785	834	764	682	622	490	834	240	207580
33	10,3	47,2	114	208	317	321	401	450	587	747	721	760	991	944	991	360	234881
34	102	323	570	1278	1219	1504	1677	2293	2301	2729	2784	2952	1681	1466	2952	300	733649
35	23,3	38,5	265	350	339	383	483	558	799	848	669	788	408	269	848	240	199830
40	154	393	651	953	1237	1203	1307	1514	1571	1501	1599	1389	953	443	1599	270	423888
41	11,6	29,5	66,0	194	205	167	170	204	200	200	264	313	181	8,92	313	300	71150
44	24,8	71,5	301	536	681	895	956	1263	1243	1427	1754	1846	1470	1034	1846	300	465404
51	22,6	75,5	183	268	240	289	227	216	270	263	226	69,5	32,6	W.n.v.*	289	120	63382
52	23,0	40,2	115	177	250	386	554	506	465	706	787	607	550	318	787	270	179432
53	23,2	71,7	186	253	312	328	441	488	608	696	832	1036	1004	918	1036	300	250765
MW	42,8	113	280	472	564	663	739	877	923	1020	1048	1036	741	661	1158		281541
SD	47,8	126	184	340	393	490	519	661	640	696	741	787	529	455	754		189698

* Werte nicht vorhanden

Tabelle 31: Plasmainsulinkonzentrationen ($\mu\text{U/ml}$ Einzelwerte + $W \pm \text{SD}$) zu den verschiedenen Blutentnahmzeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (N=12) nach der Behandlung.

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
2	21,5	39,9	233	750	929	1077	905	1367	1245	1688	2112	2099	2265	1122	2265	360	565029
31	7,06	6,9	40,8	175	544	842	800	1093	1063	1058	1060	1147	1014	964	1147	300	338821
32	27,7	14,0	228	531	667	590	952	1085	1418	1198	1399	1180	791	780	1418	210	354627
33	13,7	28,1	109	723	687	653	942	648	664	723	799	1096	1335	98,7	1335	360	305733
34	6,45	14,4	26,2	36,0	47,7	39,3	39,1	41,1	37,9	7,21	26,1	20,2	23,1	37,4	47,7	90,0	10061
35	27,9	27,2	368	680	869	1087	1321	1411	1581	1581	1753	1570	1437	1502	1753	270	510173
40	8,42	9,75	66,8	208	250	347	355	285	238	211	163	102	48,7	40,8	355	150	69073
41	8,34	23,7	143	173	205	205	187	240	227	316	341	344	239	111	344	300	91331
44	10,9	17,1	188	332	546	584	505	512	687	866	1111	956	528	400	1111	270	242444
51	8,36	10,5	12,6	24,1	23,5	17,0	40,2	50,1	39,1	34,0	22,6	24	29,4	27,3	50,1	180	8258
52	9,26	35,1	102	130	160	186	108	77,4	161	165	200	229	169	183	229	300	61684
53	23,1	22,2	223	246	242	98,2	131	96,3	107	244	326	265	406	545	545	420	94604
MW	14,4	20,7	145	334	431	477	524	575	622	674	776	753	691	484	883		220986
SD	8,27	10,4	106	267	315	386	442	531	573	599	710	684	704	500	725		193617

Tabelle 32: Plasmaplucosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + W \pm SD) zu den verschiedenen Blutentnahmepunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung (N = 15) vor der Behandlung

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
4	5,91	7,29	8,73	9,89	10,8	11,4	11,9	12,0	12,4	12,2	11,6	11,7	12,3	10,0	12,4	210	2240
5	13,6	14,7	16,0	16,7	17,6	18,3	18,6	19,3	19,04	19,0	18,2	16,5	W.n.v.	W.n.v.	19,3	180	1296
7	5,70	5,91	8,57	10,5	12,5	13,7	13,7	12,7	12,6	11,6	11,02	11,4	10,7	9,30	13,7	150	2337
8	5,47	7,01	8,97	10,7	10,7	11,6	10,9	11,1	11,6	12,0	12,5	11,6	W.n.v.	W.n.v.	12,5	270	1667
11	5,70	7,22	8,05	8,31	8,70	8,66	7,87	8,74	8,79	8,39	8,49	7,70	W.n.v.	W.n.v.	8,79	210	817
12	4,79	7,43	9,30	10,1	12,3	12,9	13,0	13,3	12,5	11,1	10,1	9,11	W.n.v.	W.n.v.	13,3	180	1993
17	6,05	8,49	9,48	11,1	10,7	10,9	10,8	9,06	7,65	7,49	7,41	7,15	W.n.v.	W.n.v.	11,1	240	993
45	6,42	7,49	10,2	10,5	10,1	10,8	10,9	11,0	8,73	7,49	6,79	7,02	4,91	4,70	11,0	180	906
57	5,57	6,75	8,56	10,8	12,0	12,2	11,8	11,6	11,7	12,1	12,1	12,0	11,6	11,5	12,2	120	2451
58	5,39	5,59	7,59	9,39	12,1	9,82	9,95	13,3	13,0	13,6	13,0	12,8	11,0	9,68	13,6	240	2405
59	5,98	6,05	7,22	7,94	9,33	9,47	8,63	9,37	10,2	10,4	11,2	10,7	11,9	11,2	11,9	360	1625
60	6,46	6,29	8,52	10,4	11,0	10,8	11,3	11,3	11,7	11,3	11,5	12,4	12,1	10,8	12,4	300	1923
64	5,72	5,97	8,44	6,86	10,4	11,5	11,8	13,0	13,8	13,9	15,0	14,5	14,5	14,3	15,0	270	2788
65	5,97	6,18	7,28	7,81	8,04	8,61	6,71	8,42	7,94	7,83	7,96	8,27	6,29	6,50	8,61	120	2240
66	5,01	5,13	7,14	8,60	9,14	10,12	9,91	9,56	9,29	8,24	7,12	6,34	5,93	4,72	10,1	120	1133
Mw	6,25	7,17	8,94	9,98	11,0	11,4	11,2	11,6	11,4	11,1	11,0	10,6	10,1	9,28	12,4		1788
SD	2,08	2,26	2,14	2,28	2,26	2,38	2,78	2,72	2,88	3,09	3,15	2,95	3,23	3,11	2,61		636

* Werte nicht vorhanden

Tabelle 33: Plasmaglucosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + W ± SD) zu den verschiedenen Blutentnahmepunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Chromsupplementierung (N = 15) nach der Behandlung

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
4	6,09	7,03	8,92	10,2	10,3	10,0	10,3	11,4	11,6	11,1	11,3	10,7	9,86	7,89	11,6	210	1727
5	13,1	14,4	16,0	15,7	17,5	17,7	17,9	16,0	15,7	15,3	15,0	14,8	15,2	15,3	17,9	150	1195
7	5,70	4,55	6,05	7,25	8,57	9,48	8,79	10,1	10,2	9,86	9,08	8,07	8,29	7,33	10,2	210	1148
8	5,80	6,47	8,25	10,0	9,95	9,70	10,0	10,8	9,76	10,2	10,2	11,5	10,1	9,26	11,5	300	1739
11	5,26	6,56	9,59	12,2	12,9	11,6	11,9	15,0	13,8	13,4	12,3	12,9	12,1	10,0	15,0	180	2894
12	5,01	5,70	6,64	7,58	8,90	9,59	9,76	10,1	10,1	W.n.v.	10,6	9,84	9,38	5,74	10,6	270	1357
17	5,16	6,19	7,61	8,58	9,55	10,9	10,8	11,6	11,5	10,1	9,12	9,12	9,18	9,00	11,6	180	1867
45	5,99	7,41	8,89	10,2	9,70	9,66	10,4	9,58	7,97	6,59	10,7	9,83	9,64	8,97	10,7	270	1416
57	5,19	6,13	7,31	8,12	7,91	7,81	7,75	7,91	8,29	9,00	9,08	8,85	8,79	5,53	9,08	270	1213
58	4,77	5,55	4,79	6,05	5,33	5,19	4,91	5,03	4,73	4,13	5,33	5,21	4,83	4,61	6,05	60,0	138
59	5,19	6,47	6,89	7,23	5,97	7,09	6,59	6,09	6,31	5,65	5,61	5,71	5,47	8,37	8,37	420	496
60	5,49	5,65	7,65	8,85	10,0	11,1	12,8	12,7	12,5	10,9	10,9	10,5	12,3	9,56	12,8	150	2200
64	5,28	5,55	6,89	7,87	8,08	9,43	9,60	10,8	11,4	11,6	11,1	10,8	9,06	8,51	11,6	240	1760
65	5,99	6,49	7,14	8,22	8,18	8,24	8,31	8,37	7,97	11,1	6,68	6,43	6,11	5,99	11,1	240	1727
66	5,37	5,77	5,75	5,79	5,83	6,29	5,73	5,61	5,11	5,41	5,59	5,29	5,09	4,67	6,29	W.n.v.	99,9
Mw	5,96	6,66	7,89	8,93	9,25	9,59	9,71	10,1	9,81	9,60	9,50	9,31	9,03	8,05	10,9		1398
SD	2,01	2,24	2,57	2,53	3,02	2,88	3,16	3,15	3,13	3,17	2,74	2,81	2,88	2,70	3,01		746

* Werte nicht vorhanden

Tabelle 34: Plasmaglucosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + W \pm SD) zu den verschiedenen Blutentnahmezeitpunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (N=12) vor der Behandlung

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
2	4,19	7,19	9,38	10,2	10,7	10,4	9,64	10,7	10,2	8,45	5,38	4,01	W.n.v.	W.n.v.	10,7	90,0	1507
31	4,50	4,63	6,03	7,44	8,94	10,4	11,1	10,7	10,7	10,0	10,1	8,94	W.n.v.	7,18	11,1	150	1421
32	4,48	7,00	8,42	10,2	10,6	11,5	13,1	13,3	12,8	12,9	12,5	12,2	11,52	8,04	13,3	180	2902
33	4,92	5,61	7,08	8,52	9,59	9,76	9,97	10,2	7,35	9,87	10,0	9,76	9,61	8,34	10,2	180	1764
34	7,28	9,52	11,7	13,2	14,0	13,7	14,4	15,2	15,1	15,2	15,7	16,3	13,5	12,7	16,3	300	2891
35	5,55	5,84	8,42	9,19	8,98	8,96	9,44	9,58	10,0	8,48	9,29	9,00	7,17	5,95	10,0	210	1246
40	6,32	8,06	9,02	10,6	10,7	10,4	10,7	11,7	11,2	10,9	10,3	10,3	8,57	6,21	11,7	180	1522
41	5,72	6,04	6,60	8,36	8,40	9,24	9,15	9,39	9,13	8,53	8,34	8,17	7,63	3,04	9,39	180	971
44	5,36	6,50	9,33	10,9	11,8	11,8	11,7	11,1	10,1	9,95	10,3	9,86	8,27	6,48	11,8	120	1904
51	6,34	6,28	7,48	9,11	9,75	10,2	9,88	9,82	9,22	9,04	8,14	7,95	5,83	4,82	10,2	120	827
52	6,04	6,82	8,07	10,7	9,11	10,6	11,7	9,96	9,22	12,2	9,19	8,62	7,56	6,67	12,2	240	1344
53	5,64	7,31	8,66	10,2	10,9	12,0	13,3	13,6	13,8	9,07	12,4	14,0	12,3	13,5	14,0	300	2656
Mw	5,53	6,73	8,35	9,89	10,3	10,7	11,2	11,3	10,7	10,4	10,1	9,93	9,20	7,54	11,7		1746
SD	0,91	1,26	1,50	1,50	1,54	1,31	1,70	1,84	2,20	2,10	2,57	3,13	2,50	3,11	1,98		712

* Werte nicht vorhanden

Tabelle 35: Plasmaglucosekonzentrationen (mmol/l, Einzelwerte + W ± SD) zu den verschiedenen Blutentnahmepunkten (min ppr.) nach Aufnahme von 1,5 g Stärke/kg KM für die Placebosupplementierung (N=12) nach der Behandlung

ID	-30	0	30	60	90	120	150	180	210	240	270	300	360	420	Max	Zeit	AUC
2	5,50	5,86	6,87	8,17	9,36	10,5	10,9	10,4	10,2	10,6	11,0	9,64	8,04	5,86	10,9	270	1515
31	4,99	4,97	5,37	6,61	8,11	8,88	8,96	8,90	8,79	8,45	8,43	7,79	7,77	7,63	8,96	150	1199
32	5,26	3,74	7,60	10,8	12,2	11,5	13,5	13,2	13,4	13,2	13,2	12,6	11,3	10,60	13,5	150	2678
33	5,53	5,88	6,55	11,0	11,7	11,9	11,9	11,3	10,4	10,4	11,7	10,3	11,2	5,59	11,9	150	1982
34	5,23	5,61	6,01	5,95	5,59	5,41	5,97	5,57	5,55	5,43	5,35	4,95	4,51	5,17	6,01	30,0	123
35	5,19	5,26	8,23	9,98	12,6	13,6	15,8	15,2	15,0	14,6	13,3	14,4	12,9	13,28	15,8	120	3275
40	5,26	6,07	6,87	8,37	8,74	8,37	8,53	7,87	6,18	6,11	5,51	5,26	5,22	5,30	8,74	8,74	601
41	5,43	6,05	7,21	9,32	10,3	10,3	10,8	10,8	10,8	10,1	10,2	9,50	7,91	5,81	10,8	150	1589
44	5,57	6,69	6,65	8,95	10,7	8,40	7,07	7,56	7,56	7,22	6,99	7,49	5,59	4,75	10,7	90,0	749
51	6,08	6,31	4,43	8,59	7,24	6,50	6,80	7,01	6,65	7,28	6,73	6,52	6,42	6,31	8,59	60,0	281
52	6,12	7,09	8,32	8,23	10,1	8,46	8,25	7,07	8,61	7,03	8,89	8,27	7,70	6,75	10,1	90,0	836
53	6,53	6,32	8,47	8,95	7,97	9,70	8,79	9,77	9,89	10,8	11,3	11,1	10,1	12,9	13,0	360	1414
Mw	5,56	5,82	6,88	8,75	9,55	9,47	9,77	9,54	9,42	9,26	9,39	8,99	8,23	7,50	10,7		1353
SD	0,46	0,87	1,22	1,49	2,12	2,30	2,91	2,79	2,83	2,83	2,82	2,86	2,66	3,04	2,59		944

Danke

Mein Dank gilt zunächst Herrn Prof. Dr. M. Coenen für die Überlassung des Themas, für die freundliche Aufnahme als "externe" Doktorandin und sein Vertrauen in die Fertigstellung dieser externen Arbeit.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Dr. Ingrid Vervuert. Für ihr stets offenes Ohr für alle erdenklichen Probleme bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit, über die folgende Auswertung an Daten bis hin zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei dem ganzen Team des Institutslabors der Tierernährung für die Auswertung der unzähligen Glucose - und Insulinproben (ich wäre dabei gestorben!) In diesem Zusammenhang danke ich unserer Kleintierklinik an der Rennbahn in Iffezheim für die Bereitstellung ihres idexx vettest Gerätes zur Auswertung der Glucoseproben aller Vorversuchspferde.

Ein besonderer Dank gilt meinen beiden Vorgesetzten Dr. Petra Ohnemus und Dr. Kai - Wiegand von Salmuth für die zeitliche Freistellung zur Blutprobenentnahme während der normalen Arbeitszeiten, für die eigentliche Durchführung des Hauptversuchs im Klinikgebäude, für die vielen freundlichen und aufmunternden Worte, die letztendlich zum Abschluß dieser Arbeit beigetragen haben. Ihr seid ein tolles Chef Team und ich bin sehr froh, in Iffezheim arbeiten zu dürfen!!

Meinen Kolleginnen und Kollegen danke ich für die tatkräftige Hilfe ("kannst du am Sonntag einen Stärketoleranztest zu Ende bringen?"), für ihre Geduld und ihre emotionale Unterstützung ("diesen Venenverweilkatheter möchtest du in DAS Pony einbauen- der landet SICHER in der rechten Vorkammer!"). Ich glaube wir sind ein lustiges und gutes Team- möchte euch alle nicht missen!

Hervorheben will ich hier noch " Flubi ", tausend Dank für die Gesellschaft in eiskalten, zugigen Offenställen. Ein freundliches Dankeschön geht an alle einweisenden Kolleginnen und Kollegen, welche ihre EMS Patienten vertrauensvoll an mich überwiesen haben.

Ein riesiges Dankeschön geht an Uwe Schweike, der mir beim Formatieren dieser Arbeit geduldigst und immer gut gelaunt mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Danke Winnie, ohne dich, hätte ich so manchen Laptop in meiner Wut zertrümmert. Danke Betty- für die vielen Stunden, die ich deinen Mann für "meine" Computerprobleme einspannen durfte.

Ein ganz liebes Dankeschön geht an meine Familie, welche mich immer und in jeglicher Art in allen Jahren unterstützt hat - und so- meinem Lebensziel wieder ein Schritt näher gebracht hat.

Meiner kleinen Afra danke ich für die -zigkilometerlangen Spaziergänge, welche mir den Leipzigaufenthalt zum Auswerten der Daten erträglicher gemacht haben; in diesem Zusammenhang gilt ein besonderer Dank noch einer sehr lieben Person, welche durch den Beginn einer völlig verrückten SMS Freundschaft mir sehr viel Freude und Spaß in Leipzig beschert - und mein Leben im Folgenden nachhaltig verändert hat!