

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. F. Hohagen

Effekte einer akuten Hyperglykämie auf den  
Hochenergiephosphatmetabolismus in Gehirn und Muskulatur  
beim Menschen

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät -

Vorgelegt von  
Maria Christine Howitz  
aus Bochum

Lübeck 2006

1. Berichterstatter                      Frau PD Dr. med. Kerstin Oltmanns

2. Berichterstatter                      Herr PD Dr. med. Jan Schuhmacher

Tag der mündlichen Prüfung 18.04.2008

Zum Druck genehmigt                      Lübeck, 18.04.2008  
gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach

# Widmung

In Gedenken an meine Mutter, Petra Howitz

<b>1 Einleitung und Fragestellung</b>	<b>5</b>
1.1 Das Metabolische Syndrom und der Diabetes mellitus Typ 2	5
1.2 Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse	7
1.3 „The Selfish Brain“ – ein neues Paradigma über die Regulation der Energieverteilung	9
1.4 Die Rolle der Bluthirnschranke bei der zerebralen Glukoseaufnahme und deren Regulation mittels Vascular Endothelial Growth Factor	14
1.5 Die <sup>31</sup> P-Magnetresonanz-Spektroskopie als Methode, den Energiemetabolismus zu untersuchen	16
1.6 Hypothese und Fragestellung	19
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>21</b>
2.1 Studienteilnehmer	21
2.2 Studiendesign	21
2.3 Versuchsablauf	23
2.4 <sup>31</sup> P-Magnetresonanz-Spektroskopie	24
2.5 Labormethoden	25
2.6 Statistische Methoden	26
<b>3 Ergebnisse</b>	<b>27</b>
3.1 Verlauf der Blutglukosekonzentration	27
3.2 Hormonkonzentrationen	27
3.3 <sup>31</sup> P-Magnetresonanz-Spektroskopie	32
<b>4 Diskussion</b>	<b>34</b>
<b>5 Zusammenfassung</b>	<b>43</b>
<b>6 Literaturverzeichnis</b>	<b>44</b>
<b>7 Anhang</b>	<b>58</b>
7.1 Abkürzungsverzeichnis	58
7.2 Bewilligung durch die Ethikkommission	60
7.3 Probandenaufklärung	61
<b>8 Danksagungen</b>	<b>63</b>
<b>9 Lebenslauf</b>	<b>65</b>

# 1 Einleitung und Fragestellung

## 1.1 Das Metabolische Syndrom und der Diabetes mellitus Typ 2

Durch den kontinuierlich wachsenden Lebensstandard zählt die Adipositas mit ihren Folgeerkrankungen zu den häufigsten Krankheiten der Industrienationen. In den USA weist ein Drittel aller erwachsenen Männer und Frauen einen Body-Mass-Index (BMI) von mehr als  $30 \text{ kg/m}^2$  auf<sup>7</sup>. In den meisten anderen westlichen Industrieländern ist dieser Anteil fast genauso hoch<sup>81</sup>. Übergewicht ist der wichtigste Promotor metabolischer Risikofaktoren, wie z.B. Erkrankungen der Gallenblase im Sinne einer Cholelithiasis, Atherosklerose, Dyslipoproteinämie, Hypertonie oder Diabetes mellitus Typ 2<sup>7</sup>. Die genaue Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2 ist bislang ungeklärt, jedoch wird die Adipositas als einer der wichtigsten Manifestationsfaktoren angesehen<sup>25</sup>. Ein unzureichend eingestellter Diabetes mellitus bringt das Risiko kardiovaskulärer Komplikationen mit sich: Er geht mit einem signifikant erhöhten Risiko einer koronaren Herzkrankheit (KHK) und eines Apoplex einher<sup>25</sup>. Bei Patienten mit Diabetes mellitus treten stille Myokardinfarkte gehäuft auf<sup>25</sup>, und auch weitere kardiovaskuläre Erkrankungen, wie z.B. die Entwicklung einer Herzinsuffizienz, sind mit dem Diabetes mellitus assoziiert<sup>37;106</sup>. Das Metabolische Syndrom (auch bekannt als endokrin-metabolisches Syndrom, Insulinresistenz-Syndrom, Syndrom X oder Reavens-Syndrom) entstand im Zusammenhang mit dem Diabetes mellitus und fand durch Reaven 1988 allgemeine Akzeptanz<sup>80</sup>. Als Metabolisches Syndrom wird die Syntropie von Adipositas vom androiden Typ (d.h. eine viszeral betonte Fettverteilung), essentieller Hypertonie, Hyper- bzw. Dyslipoproteinämie und Glukosestoffwechselstörung (Diabetes mellitus Typ 2) bezeichnet<sup>81</sup>. Es wird geschätzt, dass rund 25% der Bevölkerung der Bundesrepublik Deutschland (dies entspricht etwa 20-25 Mio. Menschen) im Laufe ihres Lebens ein Metabolisches Syndrom entwickeln werden<sup>31</sup>.

Bis jetzt konnte die Pathogenese des Metabolischen Syndroms nicht geklärt werden. Bisherige Hypothesen konzentrieren sich auf Überernährung durch das erhöhte Nahrungsangebot innerhalb der Industrienationen in Kombination mit Bewegungsmangel. Eine genetische Determinierung wird ebenfalls diskutiert. Im Zentrum der pathophysiologischen Betrachtungen steht die Insulinresistenz mit gleichzeitig bestehendem Hyperinsulinismus, die zu Veränderungen im Glukose-, Fett- und Harnsäurestoffwechsel führt und die Entstehung eines Hypertonus begünstigt<sup>81</sup>. Die der Manifestation eines Diabetes mellitus Typ 2 vorausgehenden Stoffwechselforgänge finden ihren klinischen Ausdruck in der Tatsache, dass bis zu 60% der Typ-2-Diabetiker zum Manifestationszeitpunkt bereits eine KHK aufweisen<sup>81</sup>. Fast 80% der Typ-2-Diabetiker versterben an einer atherosklerotischen Komplikation. Daher kommt der Prävention der im Metabolischen Syndrom gebündelten Risikofaktoren eine entscheidende Rolle zu.

Die wichtigste Therapiemaßnahme stellt der Deutschen Adipositas Gesellschaft sowie der European Association for the study of obesity zufolge eine Gewichtsreduktion dar. Weitere gängige Therapiemaßnahmen sind auf eine rein symptomatische Behandlung wie die medikamentöse Einstellung des Blutzuckers oder des Blutdrucks reduziert. Langfristig betrachtet gelingt jedoch den wenigsten Patienten eine dauerhafte Gewichtsreduktion und damit eine grundlegende Verbesserung der Symptomatik. Durch die detaillierte Kenntnis der Pathogenese des Metabolischen Syndroms könnten den Patienten Präventionsmaßnahmen angeboten werden. Zum besseren Verständnis der Pathogenese ist es notwendig, die genauen physiologischen und pathophysiologischen Mechanismen, welche zur Entstehung des Metabolischen Syndroms beitragen, zu erforschen. In den Fokus dieser Betrachtungen rückt in aktuellen Studien die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-(HHN)-Achse.

## 1.2 Die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse

Die auffallenden Parallelen zwischen dem Metabolischen Syndrom und dem Cushing-Syndrom<sup>70</sup> wie Adipositas, diabetische Stoffwechsellage und Hypertonie veranlassten zu der Annahme, dass zwischen dem klinischen Krankheitsbild des Metabolischen Syndroms und einer Störung der HHN-Achse ein Zusammenhang besteht<sup>99</sup>. In der physiologischen Stressreaktion nimmt die HHN-Achse eine zentrale Rolle ein. Über das im Nucleus Paraventricularis des ventromedialen Hypothalamus gebildete Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH; Abb. 1, Nr. 2) wird die Sekretion des adrenocorticotropen Hormons (ACTH) aus dem Hypophysenvorderlappen, d.h. der Adenohypophyse stimuliert<sup>115</sup>.

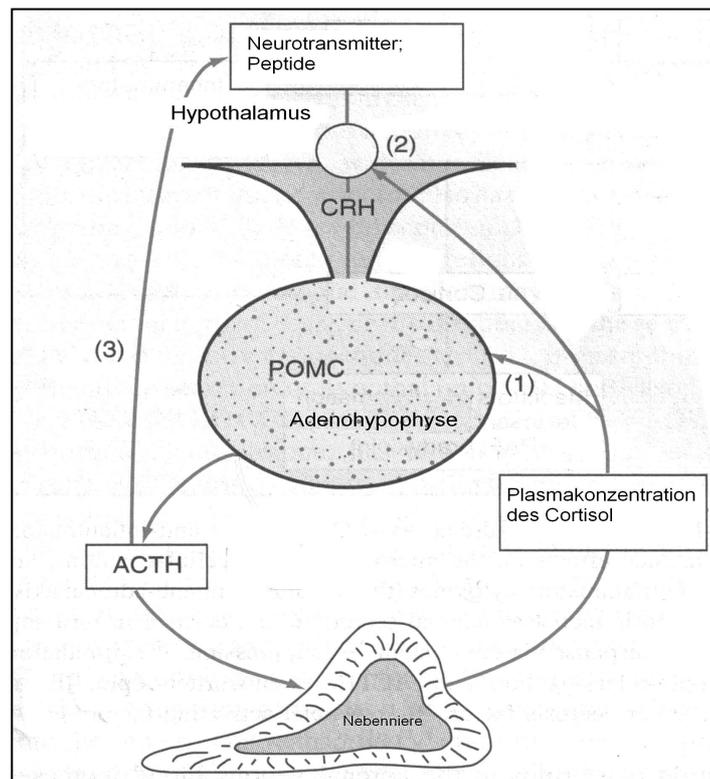


Abbildung 1, modifiziert nach Williams<sup>19</sup>: Physiologische Regulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse.

ACTH: Adrenocorticotropes Hormon; CRH: Corticotropin-Releasing-Hormon; POMC: Propiomelanocortin

Das Peptidhormon ACTH, das melanozytenstimulierende Hormon (MSH) sowie  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\beta$ -Endorphine werden von den Propiomelanocortin-(POMC)-Zellen (früher: kortikotrope Zellen) der Adenohypophyse aus dem Vorläufermolekül POMC synthetisiert (Abb. 1, Nr. 1).

ACTH wiederum bewirkt die Freisetzung der Glukocorticoide aus der Zona fasciculata der Nebennierenrinde. Das Cortisol als Hauptvertreter der Glukocorticoide stimuliert u.a. den Katabolismus von peripherem Fett- und Proteinstoffwechsel für die hepatische Glukoseproduktion<sup>63</sup>. Gleichzeitig weist es antiinflammatorische Effekte auf und moduliert die Reaktionen auf Stress. Durch negatives Feedback hemmt Cortisol die Synthese von CRH und ACTH<sup>42</sup> (lange Feedback-Schleife) und ACTH die Synthese von CRH (kurze Feedback-Schleife)<sup>119</sup>.

Das Cushing-Syndrom ist gekennzeichnet durch chronischen Glukocorticoidexzess unterschiedlicher Genese: Die häufigste Ursache des Cushing-Syndroms stellt der M. Cushing dar, die Bezeichnung für ein Cushing-Syndrom, welches durch einen hypophysären corticotrophen Tumor verursacht wurde<sup>70</sup>. Die Symptomatik des Hypercortisolismus ergibt sich aus der Wirkung des Cortisol, d.h. den insulinantagonistischen, diabetogenen und lipolytischen Stoffwechselwirkungen, den mineralocorticoiden Effekten des Cortisols sowie dem resultierenden Androgenüberschuss. Sind Patienten der Glukocorticoidwirkung langfristig hochdosiert ausgesetzt, leiden sie unter stammbetonter Adipositas und dem typischen Vollmondgesicht<sup>119</sup>. Häufig entsteht durch den Insulinantagonismus des Cortisols eine diabetische Stoffwechsellage. Durch die mineralocorticoide Wirkung des Cortisol entsteht eine mäßige Hypertonie mit Hypernatriämie und Hypokaliämie. Durch Androgenüberschuss kann es bei Frauen zu Hirsutismus und Oligo- bzw. Amenorrhoe kommen.

Die Parallelen dieser Symptome zu denen des Metabolischen Syndroms gaben Anlass, den Bezug von erhöhten Stresshormonen wie Cortisol oder Adrenalin zu einem gestörten Glukosemetabolismus zu untersuchen. Es ist bekannt, dass die Adrenalinantwort im Plasma von Patienten mit nicht insulinabhängigem Diabetes mellitus bei Hypoglykämien im Vergleich zu Gesunden verstärkt ist<sup>92</sup>. Rosmond et al. zeigten 1998, dass adipöse Patienten eine Dysregulation der HHN-Achse im Sinne einer erhöhten Cortisolausschüttung

aufweisen<sup>82</sup>. Man weiß zudem, dass unter Stressbedingungen die Cortisolausschüttung bei Frauen mit viszeral betonter Adipositas verstärkt ist<sup>89</sup>. Die Arbeitsgruppe um Professor Peters zeigte 2006 erstmals im Rahmen der epidemiologischen Diabetesstudie NORDIA, dass in einer Kohorte von 190 Typ 2 Diabetikern die Ausprägung der Krankheit direkt mit einer Erhöhung der Cortisol-Tagesspiegel korreliert<sup>67</sup>. Es stellt sich also die Frage, welche Zusammenhänge zwischen dem Metabolischen Syndrom und einer Aktivierung der Stressachsen bestehen.

### **1.3 „The Selfish Brain“ – ein neues Paradigma über die Regulation der Energieverteilung**

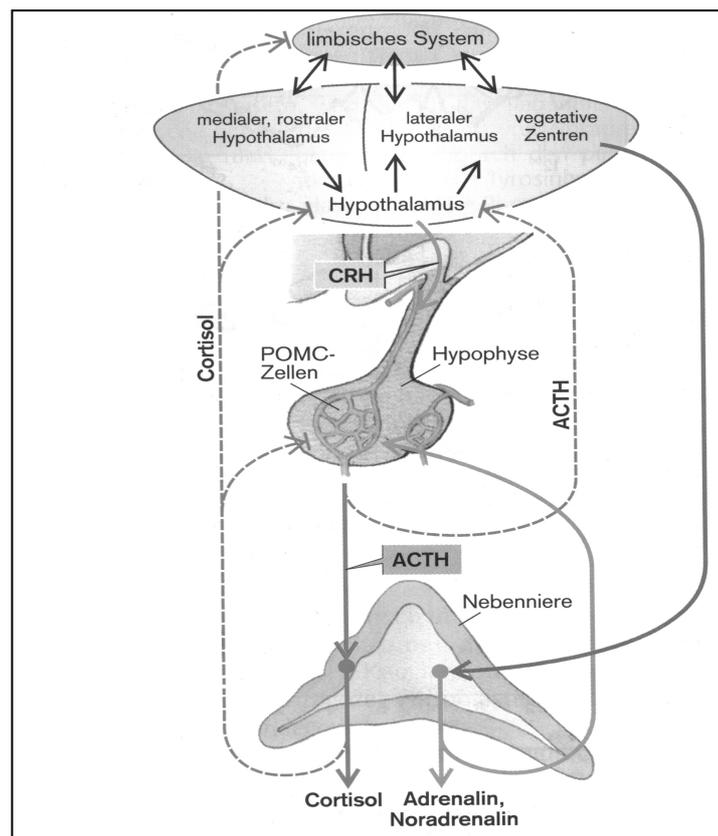
“The Selfish Brain: competition for energy resources” stellt ein neues Paradigma über die Regulationsmechanismen der Energieversorgung unter Einbeziehung der Stressachsen dar. Dieses Denkmodell betrachtet die Steuerung des Energiestoffwechsels von einem neuen Standpunkt aus: Innerhalb der glukoseverbrauchenden Organe besteht eine Hierarchie, bei der das Gehirn an oberster Stelle steht<sup>76</sup>. Das Gehirn reguliert den Energiemetabolismus. Es kann über afferente Nervenwege Informationen über die peripheren Organe erhalten und mit Hilfe von efferenten Nerven ihren Energiemetabolismus kontrollieren<sup>48</sup>. Das Gehirn nimmt nicht nur wegen des hohen Energieverbrauchs und der geringen Energiespeicherkapazität eine Sonderstellung innerhalb des Organismus ein. Es ist von der Blutzirkulation durch die Bluthirnschranke (BHS) abgetrennt. Bestimmte Substanzen wie z.B. Glukose können die BHS nur über spezifische Transportmoleküle, in diesem Fall den Glukosetransporter 1 (GLUT 1), passieren<sup>112</sup>. Die Synthese von Adenosintriphosphat (ATP) als Hauptenergielieferant der Zellen ist innerhalb des Gehirns hauptsächlich von der Versorgung mit Glukose abhängig, im Gegensatz zu anderen Geweben wie Muskulatur oder Fettgewebe, die Glukose, Fett oder Proteine zur ATP-Synthese verwenden können. Aber auch Laktat<sup>54:75</sup> sowie Ketone<sup>114</sup> können vom zentralen Nervensystem (ZNS) als Energielieferant genutzt werden. Oberste Priorität besitzt die Konstanthaltung der

zerebralen Energieversorgung, die Energieversorgung der Peripherie ist von zweitrangiger Bedeutung.

Die ATP-Konzentration innerhalb des ZNS wird insbesondere in Neuronen des Hypothalamus<sup>34;121</sup>, aber auch in anderen Bereichen des Gehirns wie dem Neocortex<sup>39</sup>, von ATP-sensitiven Kalium-(K<sup>+</sup>)-Kanälen gemessen. Die K<sup>+</sup>-Kanäle fungieren als Glukosesensoren und reagieren auf Abweichungen von der Sollwerteinstellung<sup>48</sup>. Ist die intrazerebrale Energiekonzentration und somit die ATP-Konzentration erniedrigt, wird aus exzitatorischen Neuronen der Botenstoff Glutamat freigesetzt<sup>76</sup>. Magistretti et al. zeigten 1999 einen Wirkmechanismus auf, durch den das Gehirn bedarfsgerecht Glukose rekrutieren kann („Energy on demand“): Glutamat dient als Signal für Astrozyten, die Glukoseaufnahme über die BHS zu erhöhen<sup>52</sup>. GLUT 1, durch den Glukose in das ZNS transportiert wird, ist sowohl in Endothelzellen der BHS als auch in den Endfüßen der Astrozyten, welche sich an den Gefäßoberflächen der Kapillaren innerhalb des Gehirns befinden, vorhanden<sup>62</sup>. Durch Glutamat wird in den Astrozyten die Laktatproduktion, die Glukoseutilisation im Sinne einer aeroben Glykolyse<sup>74</sup> und die Glukoseaufnahme an der BHS über GLUT 1 in das ZNS<sup>52;74</sup> angeregt und somit den Neuronen bei Bedarf mehr Energie zugeführt.

Dem Organismus stehen zwei Möglichkeiten zur Verfügung, das zerebrale Glukoseangebot zu erhöhen: Nahrungsaufnahme und Allokation, d.h. die Umverteilung von für das Gehirn nutzbaren Energiesubstraten wie Glukose oder Laktat aus der Peripherie in das ZNS. Wesentlich für die Allokation ist die Glukoseaufnahme mit Hilfe der Glukosetransporter. Die Glukoseaufnahme in die Muskulatur findet insulinabhängig durch GLUT 4<sup>93</sup>, die in das ZNS insulinunabhängig durch GLUT 1<sup>93;112</sup> statt. Ist die Insulinkonzentration erniedrigt, wie z.B. im Hungerzustand, ist die insulinabhängige Glukoseaufnahme in die Muskulatur verringert und die Glukose wird hauptsächlich über GLUT 1 in das Gehirn aufgenommen. Es findet also ein Shift der Energiesubstrate zugunsten des Gehirns statt.

Durch Allokation wird über eine Aktivierung der Stressachsen (HHN-Achse und Sympathikus) die Blutglukosekonzentration erhöht und dem Gehirn somit zusätzlich Glukose bereitgestellt, die aufgenommen werden kann. Von besonderer Bedeutung ist hierbei die Aktivierung des limbischen Systems, bei der Glutamat als Triggersubstanz dient. Die Nervenbahnen des limbischen Systems ziehen zum Hypothalamus (Abb. 2). Der Nucleus Paraventricularis des ventromedialen Hypothalamus aktiviert via CRH die HHN-Achse und initiiert die Synthese und Ausschüttung von Cortisol, welches durch seine katabolen Stoffwechselwirkungen wie z.B. der Förderung der Glukoneogenese die periphere Blutzuckerkonzentration anhebt. Desweiteren wird über die Aktivierung des Hypothalamus das sympathische Nervensystem aktiviert und die Ausschüttung von Adrenalin aus dem Nebennierenmark initiiert.



**Abbildung 2, modifiziert nach Voigt<sup>195</sup>: Regulation der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse und Interaktionen mit dem sympathischen Nervensystem**

ACTH: Adrenocorticotropes Hormon; CRH: Corticotropin-Releasing-Hormon; POMC: Proopiomelanocortin

Adrenalin kann zum einen über die Steigerung der hepatischen Glukoneogenese die Blutzuckerkonzentration erhöhen, zum anderen die Insulinausschüttung an den pankreatischen  $\beta$ -Zellen hemmen und dadurch die zirkulierende Insulinkonzentration verringern. Zudem können Adrenalin<sup>4;8;15;116</sup>, Noradrenalin<sup>47</sup> und Cortisol<sup>3</sup> die insulinvermittelte Glukoseaufnahme antagonisieren und somit eine Insulinresistenz an peripherem Gewebe, vor allem an Muskelgewebe, bewirken. Als Folge dessen verringert sich die insulinabhängige Glukoseaufnahme in peripheres Gewebe. Auf diese Weise wird durch die Stresshormone das Blutglukoseangebot an der BHS erhöht.

Das Gehirn kann die Blutglukosekonzentration zusätzlich steigern, indem es durch Zunahme des Appetits die Nahrungsaufnahme initiiert (Abb. 3). Es konnte gezeigt werden, dass die Nahrungsaufnahme durch Neuronen des Nukleus Arcuatus des mediobasalen Hypothalamus mit Hilfe von appetitanregenden bzw. appetithemmenden Neuropeptiden beeinflusst wird: Anabole Neuronen exprimieren Neuropeptid Y (NPY) und das Agouti-Related Peptide (AgRP)<sup>88</sup>, zwei Botenstoffe, welche den Appetit und die Nahrungsaufnahme fördern und den Glukoseverbrauch hemmen<sup>66;103;110</sup>. Sie werden durch Insulin und Leptin (ein Proteohormon, das von Fettzellen sezerniert wird und proportional zum Gehalt des Körperfettes zirkuliert), deren Konzentrationen mit steigendem Plasmaglukose- und Körperfettgehalt steigen, gehemmt<sup>86;88</sup>. Katabole Neuronen werden durch Insulin und Leptin<sup>10;87</sup> aktiviert und produzieren das anorexigene POMC<sup>88</sup>, einen Transmitterstoff, der die Nahrungsaufnahme hemmt<sup>10;87</sup>. Wird innerhalb des ZNS mittels ATP-sensitiver  $K^+$ -Kanäle ein Energieabfall festgestellt, werden durch die Freisetzung von Glutamat anabole Neuronen des Hypothalamus aktiviert<sup>102;104</sup>. Diese fördern mittels NPY und AgRP Appetit und Nahrungsaufnahme. Zusätzlich wird im Falle einer Energiemangelsituation die Nahrungsaufnahme über einen Feedback-Mechanismus von der Peripherie ausgehend gesteigert, da bei sinkendem Plasmaglukose- und Körperfettgehalt die Konzentration des im Blut zirkulierenden Insulin bzw. Leptin abfällt. Dies hat zur Folge, dass die hemmende

Wirkung von Insulin und Leptin auf die NPY- und AgRP-Freisetzung entfällt, die Konzentration dieser Botenstoffe steigt und somit die Nahrungsaufnahme gefördert wird.

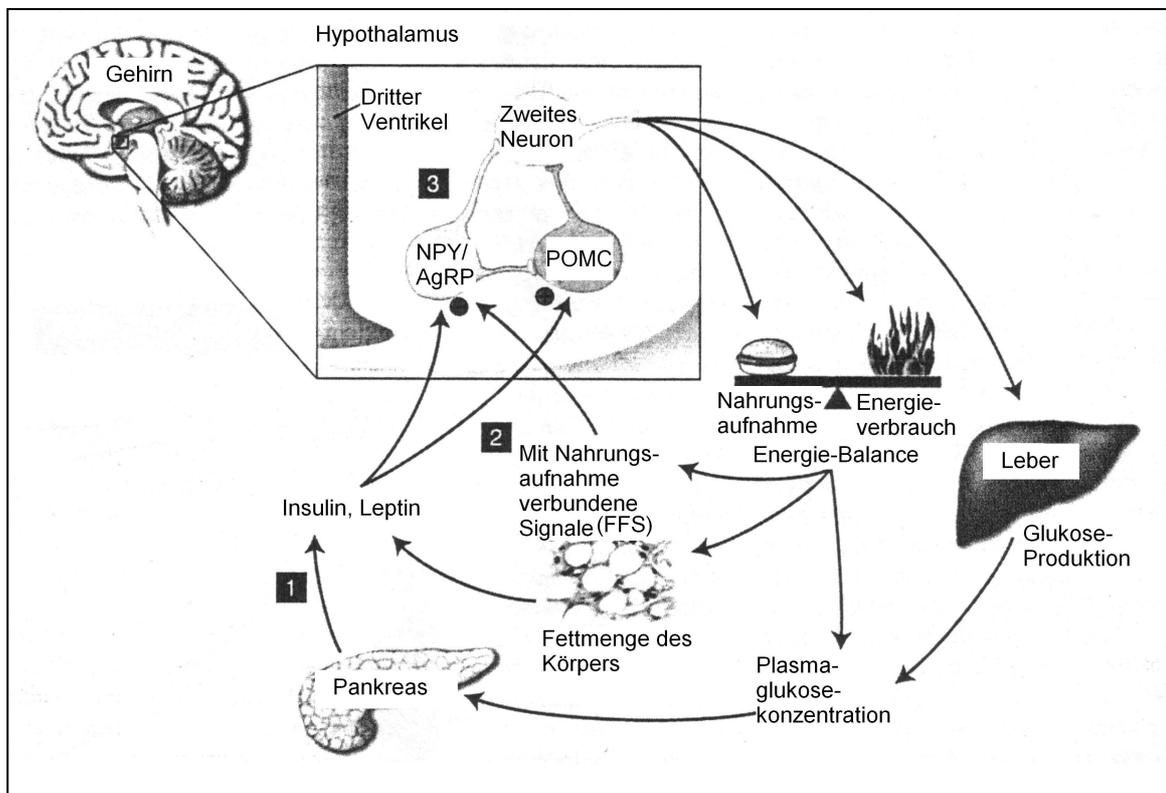


Abbildung 3, modifiziert nach Schwartz<sup>96</sup>: Regulation von Nahrungsaufnahme und Glukosestoffwechsel.

FFS: Freie Fettsäuren; NPY: Neuropeptide Y; AgRP: Agouti-Related Peptide; POMC: Proopiomelanocortin

Im Falle einer hohen intrazerebralen ATP-Konzentration werden inhibitorische Neuronen der Stressachsen aktiviert<sup>76</sup>. Diese hemmen über den Botenstoff  $\gamma$ -Amino-Butyric Acid (GABA) die Aktivität der exzitatorischen Neuronen. Bezogen auf die Regulation von Allokation und Nahrungsaufnahme ist die Aktivitätsminderung der glutamatergen sowie der dopaminergen<sup>1</sup> Neuronen bedeutsam. Durch diese Regelmechanismen wird die Konstanthaltung der Glukosekonzentration des Gehirns im engen Rahmen ermöglicht. Das Erklärungsmodell des „Selfish Brain“ legt eine physiologische Verbindung zwischen der Energieversorgung des Gehirns und der Aktivierung der Stressachsen im Falle einer zerebralen Mangelversorgung dar.

#### 1.4 Die Rolle der Bluthirnschranke bei der zerebralen Glukoseaufnahme und deren Regulation mittels Vascular Endothelial Growth Factor

Die Bluthirnschranke (BHS) übt eine aktive Kontrollfunktion über den Stoffaustausch zwischen ZNS und Peripherie aus<sup>40</sup>. Die Schrankenfunktion erklärt sich aus der Tatsache, dass die Kapillaren innerhalb des ZNS nicht fenestriert sind. Tight junctions zwischen den Endothelzellen verhindern den parazellulären Durchtritt größerer Moleküle. Daher ist es notwendig, dass die aus der Kapillare austretenden Substanzen durch die Endothelzellen diffundieren oder transportiert werden. Im Fall der Glukose handelt es sich um eine erleichterte Diffusion mittels GLUT 1<sup>71;93</sup>, welcher in den Endothelien der BHS<sup>28</sup> und in den perivaskulären Endfüßen der Astrozyten nachzuweisen ist<sup>113</sup>. Mutationen dieses Transporters (bekannt als Glut 1 deficiency syndrome) verursachen einen abnormal niedrigen Glukosegehalt des Liquor<sup>13</sup> und unkontrollierbare Krämpfe<sup>90</sup>. Physiologisch steigt unter hypoglykämischen Bedingungen die Glukosetransportrate in das Gehirn an, was mit einem proportionalen Anstieg des GLUT 1 assoziiert ist<sup>97</sup>. Chronische Hyperglykämien hingegen führen zu einer Hemmung der Glukoseaufnahme mittels GLUT 1 über die BHS<sup>18;29</sup>. In experimentell induziertem Diabetes mellitus bei Kaninchen wurde eine Erniedrigung der GLUT 1 – Aktivität an der BHS um 44% verzeichnet<sup>72</sup>. Es wird unlängst angenommen, dass die für den Glukosetransport über die BHS verantwortlichen Parameter dem Glukosebedarf des neuronalen Gewebes angepasst werden<sup>49</sup>. Sone et al. identifizierten einen potentiellen Mediator der GLUT 1 – vermittelten Glukoseaufnahme: Sie konnten darlegen, dass die Translokation des zytosolischen GLUT 1 an die Oberfläche der Plasmamembran der BHS durch Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) erhöht und dadurch der Glukosetransport in das ZNS gesteigert werden konnte<sup>100</sup>.

VEGF (auch bekannt als Vascular Permeability Factor VPF), ein endothelspezifisches Zytokin, wurde erstmalig 1983 aufgrund seines permeabilitätserhöhenden Effektes auf Blutgefäße – VEGF besitzt eine 1000fach höhere Wirkung auf die Gefäßpermeabilität als Histamin –

unter dem Namen VPF identifiziert<sup>91</sup> und einige Jahre später als VEGF mittels Mitogen-Assay in der Hypophyse nachgewiesen<sup>21</sup>. Unter anderem wurde VEGF in Verbindung mit vaskularisationsabhängigem Tumorwachstum bekannt. Die Tumorthherapie mit Antikörpern gegen VEGF hatte eine rasante Reduktion der Tumorangiogenese und -größe zur Folge<sup>44</sup>. VEGF fördert die Monozytenmigration und moduliert die prokoagulatorischen Eigenschaften von Endothel und Monozyten<sup>9</sup>, es stimuliert in vitro das Zellwachstum von Gefäßendothelzellen, induziert Angiogenese, ruft eine Vasodilatation hervor und steigert die Gefäßpermeabilität<sup>23;117</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass VEGF die Permeabilität der Endothelzellen der BHS in vitro über Stimulation der Prostacyclin-<sup>64</sup> und Stickstoffmonoxid-(NO)-Produktion<sup>57</sup> erhöht.

Dantz et al. zeigten 2002, dass eine akute Hypoglykämie mit einem Anstieg der Serum-VEGF-Konzentration assoziiert ist<sup>12</sup>. Dieser Anstieg korrelierte positiv mit dem Erhalt der neurokognitiven Funktion. Die genaue Lokalisation dieser VEGF-Sekretion konnte bislang nicht eindeutig geklärt werden. Innerhalb des ZNS lassen sich besonders hohe Konzentrationen von VEGF - messenger - Ribonucleic Acid (mRNA) im Hypothalamus und in Follicular Cells (FC-Zellen) der Adenohypophyse nachweisen<sup>22</sup>. Desweiteren wurde in vitro die Expression von VEGF-mRNA und die VEGF-Synthese in Gliomzellen<sup>95;105</sup>, Zellen der Retina<sup>101</sup> und der Monozyten-Zelllinie U-937<sup>84</sup> nachgewiesen. Der angenommene Mechanismus der VEGF-Sekretion innerhalb des ZNS besteht in einem stimulatorischen Effekt auf die VEGF-produzierenden Neuronen infolge eines ATP-Abfalls. Die VEGF-Rezeptoren der zerebralen Mikrogefäße sind vorwiegend an der abluminalen Gefäßwand lokalisiert<sup>117</sup>. Da nachgewiesen wurde, dass VEGF die GLUT 1 - Genexpression<sup>73</sup> und den Glukosetransport an Endothelzellen der BHS erhöht<sup>100</sup>, gilt VEGF seit kurzem als Kandidat für die direkte Regulation der Glukoseaufnahme in das ZNS. Als Indikator für eine gesteigerte Glukoseaufnahme in das ZNS können die Metaboliten aus dem

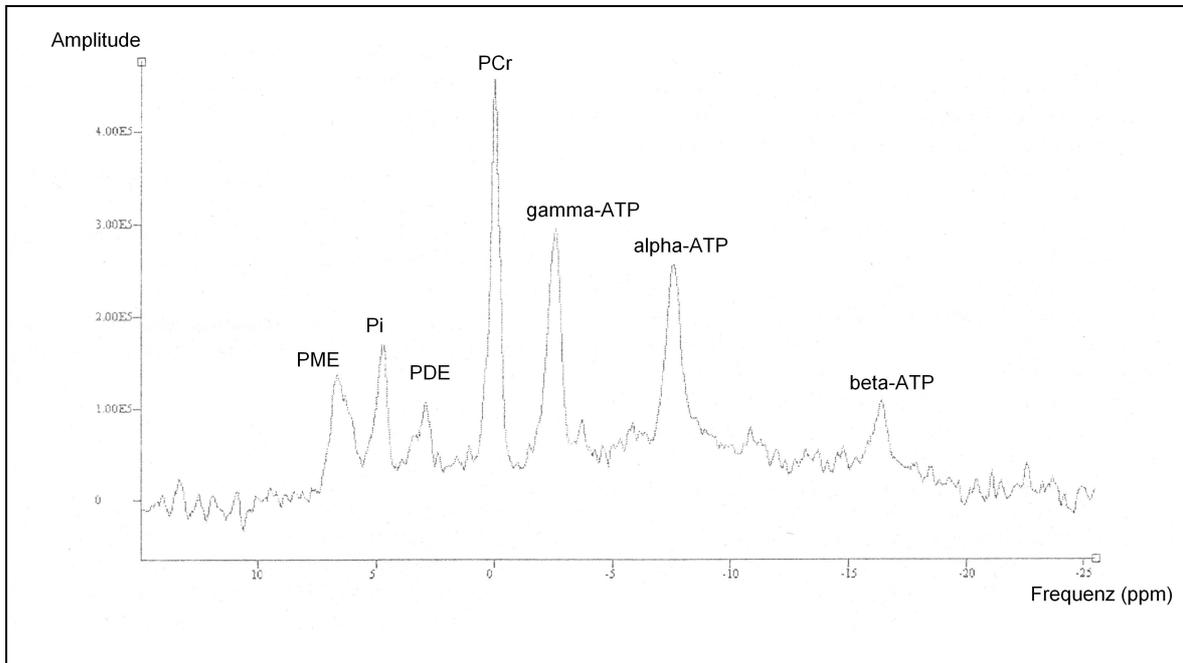
Energiestoffwechsel dienen. Um diese Metaboliten zu messen, bietet sich die  $^{31}\text{P}$ Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie ( $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie) an.

### **1.5 Die $^{31}\text{P}$ -Magnetresonanz-Spektroskopie als Methode, den Energiemetabolismus zu untersuchen**

Die  $^{31}\text{P}$ Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie ( $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie) ist ein nicht-invasives Messverfahren, welches erlaubt, Metaboliten, ihre Konzentration und deren zeitabhängige Änderung in Organen oder Geweben *in vivo* zu beobachten. Durch die Bestimmung der Resonanzfrequenz von Isotopen können verschiedene Stoffwechselprodukte identifiziert werden. Aufschluss über die Konzentration der Metaboliten gibt hierbei die Signalintensität. Mit Hilfe der  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie ist eine *in vivo* Analyse wichtiger Bestandteile des Membran- und Phosphatstoffwechsels sowohl in der Muskulatur<sup>83</sup> als auch im Hirn<sup>43;79</sup> möglich, ohne den Probanden einer Strahlenbelastung auszusetzen. Das  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektrum des Gehirns misst die Gruppe der Phosphomonoester (PME), Phosphodiester (PDE), das anorganische Phosphat (Pi), das Phosphokreatin (PCr) und  $\alpha$ -,  $\beta$ - sowie  $\gamma$ -ATP als sieben separate Peaks<sup>36</sup> (Abb. 4).

Der PME-Peak umfasst verschiedene Metaboliten, z.B.  $\alpha$ -Glycerolphosphate, Inositolphosphate sowie Phosphate, die mit der Phospholipidsynthese der Zellmembranen in Verbindung stehen (Phosphocholine und Phosphoethanolamine)<sup>36</sup>. Die Signale des PDE-Peaks repräsentieren hauptsächlich Phospholipide der Zellmembran oder deren Abbauprodukte (Glycerolphosphocholine und Glycerolphosphoethanolamine). Das Pi ist an metabolischen Vorgängen beteiligt, die im Zusammenhang mit der ATP-Synthese stehen. PCr kann als Energiereservoir der Zelle betrachtet werden. Es wird zur ATP-Synthese genutzt. In Geweben mit hohem Energieverbrauch wie Muskulatur oder Gehirn findet es sich in höheren Konzentrationen als in Geweben, die weniger Energie benötigen. Das ATP mit

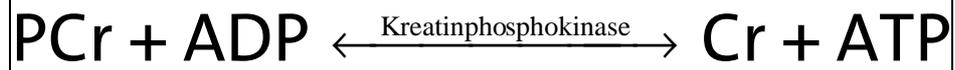
seinen drei Phosphatgruppen ( $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -ATP) steht den Geweben als hochenergetische Substanz für alle Stoffwechselfvorgänge, die Energie benötigen, zur Verfügung.



**Abbildung 4 aus Iosifescu, 2003<sup>36</sup>: <sup>31</sup>Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie bei einer 33-jährigen gesunden Frau.**

ATP: Adenosintriphosphat; PCr: Phosphokreatin; PDE: Phosphodiester; Pi: anorganisches Phosphat; PME: Phosphomonoester.

ATP stellt den Hauptenergielieferanten der Zellen dar. Es liefert durch hydrolytische Abspaltung der terminalen Phosphatgruppe Energie. Es existieren verschiedene Reaktionswege, durch die ATP synthetisiert wird: Bei der anaeroben Glykolyse von einem Glukosemolekül werden 2 Laktatmoleküle und 2 ATP erzeugt<sup>52</sup>. Wird Laktat mit Hilfe der Laktatdehydrogenase zu Pyruvat umgewandelt und durch oxidative Phosphorylierung verstoffwechselt bzw. wird die Glukose aerob abgebaut, ist der ATP-Gewinn mit 18 ATP pro Molekül Glukose bzw. Laktat bedeutend höher<sup>52;75</sup>. Neben ATP steht sowohl der Muskulatur als auch dem Gehirn PCr als Energiespeicher zur Verfügung. Durch das Enzym Kreatinphosphokinase kann kurzfristig ATP aus Adenosindiphosphat (ADP) und PCr synthetisiert werden, so dass es der Zelle möglich ist, einen konstanten ATP-Spiegel zu erhalten<sup>78</sup>:



Umgekehrt wird in einer Erholungsphase das Energiereservoir PCr umgehend wieder aufgefüllt, indem die Reaktion in entgegengesetzter Richtung verläuft.

Mit Hilfe der  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie ist es möglich, intrazelluläre bioenergetische Zusammenhänge zu beleuchten, ohne diese durch die Messungen selbst zu beeinflussen. Matthews et al. zeigten 1991, dass die Messungen von bioenergetischen Abweichungen der  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie der Sensitivität von Muskelbiopsien entsprachen<sup>56</sup>. Die  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie konnte bereits in verschiedenen Studien mit unterschiedlichsten Fragestellungen genutzt werden. Als Beispiele können die in vivo Untersuchung des Energiemetabolismus der Muskulatur beim Gesunden sowie bei Patienten mit arterieller Verschlusskrankheit<sup>58</sup>, die Untersuchung des Energiemetabolismus innerhalb des Gehirns bei Patienten mit Muskeldystrophie Typ Duchenne<sup>109</sup>, mitochondrialen Zytopathien<sup>20</sup> oder affektiven Störungen<sup>36;41</sup> genannt werden.

## 1.6 Hypothese und Fragestellung

Da Untersuchungen ergeben haben, dass adipöse Patienten eine erhöhte Cortisolsekretion<sup>82;89</sup> und Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ein erhöhtes Cortisol-Tagesprofil aufweisen<sup>67</sup>, stellt sich die Frage, worin die Ursache der Aktivierung der Stressachsen liegt. Als Grundlage meiner Untersuchungen wird davon ausgegangen, dass die pathophysiologische Ursache von Erkrankungen wie der Adipositas und dem Metabolischen Syndrom eine gestörte Allokation ist. Eine gestörte Allokation hätte eine energetische Minderversorgung des Gehirns zur Folge, die von ATP-abhängigen  $K^+$ -Kanälen registriert<sup>34;121</sup> und zu einer kompensatorischen Aktivierung der HHN-Achse und des sympathischen Nervensystems führen würde<sup>76</sup>.

Als Ursache für eine zerebrale Minderversorgung wäre eine Störung der Bluthirnschrankenfunktion im Sinne einer verringerten Glukosetransportrate möglich. Dem Gehirn würde durch den Glukose- bzw. ATP-Abfall trotz peripherer Normo- oder Hyperglykämie ein Hungerzustand signalisiert werden. Als gegenregulatorische Maßnahme würde durch die Aktivierung der Stressachsen und die Freisetzung von appetitanregenden Hormonen die Allokation erhöht und die diabetische Stoffwechsellage forciert. Diese Hypothese würde erklären, warum die Behandlung der unter dem Metabolischen Syndrom zusammengefassten Erkrankungen wie Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 oftmals wenig Erfolge zeigt: Durch diätetische Kalorienrestriktion bzw. eine Absenkung der peripheren Blutglukose im Rahmen einer Diabetestherapie würde durch die BHS-Transportstörung innerhalb des ZNS der zugrunde liegende energetische Mangelzustand aggraviert und sowohl die gegenregulatorische Stressachsenaktivität als auch der Appetit zusätzlich gesteigert werden. Dies hätte im Sinne eines Circulus vitiosus eine Verstärkung der Adipositas und der diabetischen Stoffwechsellage zur Folge und würde das Krankheitsbild somit verschlechtern, was die klinische Erfahrung bei den meisten Patienten zeigt.

Um diese Hypothese überprüfen zu können, ist es notwendig, zuerst die Regulationsmechanismen am Gesunden zu betrachten. Es soll der Mechanismus der Allokation fokussiert werden. Die Hypothese setzt voraus, dass der Energiestoffwechsel der Peripherie von dem des ZNS getrennt ist. Im Rahmen einer akuten Hypoglykämie wurde im Vergleich von Gehirn- zu Muskelgewebe ein Shift der Hochenergie-Phosphate ATP und PCr zugunsten des Gehirns gemessen<sup>69</sup>. Dies war verbunden mit einem Anstieg der VEGF-Konzentration.

Meine Untersuchungen sollen zeigen, dass analog zu den Ergebnissen unter Hypoglykämie eine akute Hyperglykämie zu divergierenden Antworten innerhalb des ZNS und der Peripherie führt. Es wird erwartet, dass unter einer akuten Hyperglykämie die Hochenergiephosphatkonzentration in der Muskulatur ansteigt und innerhalb des Gehirns im Sinne einer Neuroprotektion konstant gehalten wird, vermittelt durch einen Abfall der VEGF-Konzentration. Da während einer Hypoglykämie ausgehend vom ZNS als gegenregulatorische Maßnahme die Stressachsen aktiviert werden, wird im Rahmen einer akuten Hyperglykämie erwartet, dass die Aktivität der Stressachsen absinkt.

## **2 Material und Methoden**

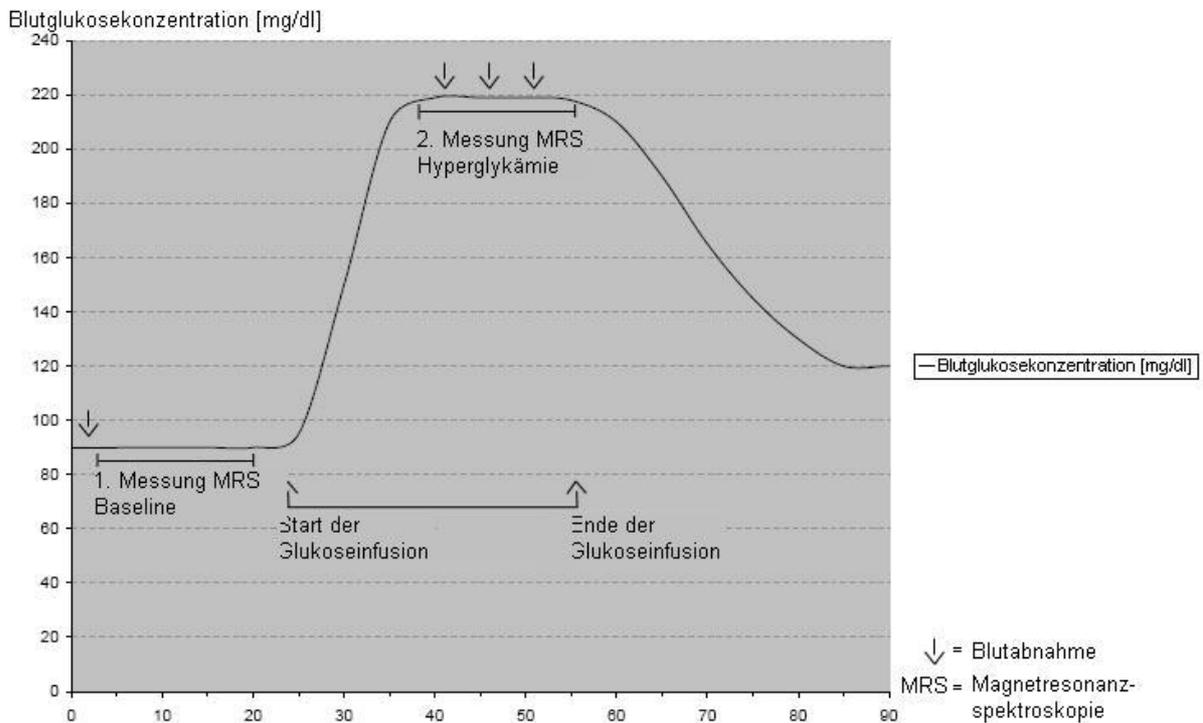
### **2.1 Studienteilnehmer**

Es nahmen dreiundzwanzig junge gesunde Männer (Alter 25.2 +/- 3.3 Jahre) mit einem Body-Mass-Index (BMI) unter 25 kg/m<sup>2</sup> (23 +/- 2.3 kg/m<sup>2</sup>) an der Studie teil. Ausschlusskriterien waren chronische oder akute Erkrankungen, Medikamenteneinnahme, Nikotinabusus (> 5 Zigaretten/d), Alkohol- oder Drogenabhängigkeit, Leistungssport, Angststörungen und besondere Belastungssituationen psychischer und physischer Art. Desweiteren durften sie 4 Wochen vor dem Versuch kein Blut spenden und an keinen anderen Studien teilnehmen. Die Probanden waren angehalten, am Versuchsvortag keinen Alkohol zu trinken, keiner erschöpfenden körperlichen Tätigkeit nachzugehen, sich nicht später als 23:00 Uhr schlafen zu legen und mindestens 12 Stunden vor Versuchsbeginn nüchtern zu bleiben. Am Versuchstag sollten die Probanden sich gesund fühlen. Jeder Proband wurde internistisch untersucht und gab nach ausführlicher Aufklärung (s. Kap. 7.3) über den Studienablauf sowie die möglichen mit der Teilnahme verbundenen Risiken sein schriftliches Einverständnis. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck bewilligt (s. Kap. 7.2).

### **2.2 Studiendesign**

Bei jedem Probanden wurden mittels <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie Metaboliten des Hochenergiephosphatstoffwechsels zentral und peripher, das heißt im visuellen Kortex des Gehirns und in der Muskulatur (M. trapezius), während einer Baseline-Periode und anschließend während der durch Glukoseinfusion induzierten Hyperglykämie untersucht. Die Messungen unter Hyperglykämie wurden bei Erreichen der Zielkonzentration der Blutglukose von 180-250 mg/dl vorgenommen. Zugleich wurden die Konzentrationen von

Insulin, C-Peptid, ACTH, Cortisol, Adrenalin, Noradrenalin, Laktat und VEGF vor und während der Hyperglykämie bestimmt.



**Abbildung 5: Skizze des Versuchsablaufs**

Kurve der Blutglukosekonzentration. Eingetragen ist ebenfalls die chronologische Abfolge der Messungen der <sup>31</sup>Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie (MRS), der Blutabnahmen sowie der Glukoseinfusion mittels Infusomat.

Der Versuchsablauf begann mit der Vorbereitung des Probanden auf die Untersuchung sowie der ersten Blutabnahme. Es folgte die Baseline-Phase, während der die Ausgangskonzentrationen der Phosphatstoffwechselmetaboliten im visuellen Kortex und im M. trapezius bestimmt wurden. Anschließend wurde mittels Glukoseinfusion die Blutglukosekonzentration auf das gewünschte Niveau von 180-250 mg/dl angehoben. Bei Erreichen des Zielwertes wurde eine erneute Messung der Phosphatstoffwechselmetaboliten vorgenommen sowie Blutproben zur Verlaufsbestimmung der Hormonkonzentrationen entnommen. Während der gesamten Phase der Blutzuckereinstellung wurden engmaschige Blutzuckerkontrollen vorgenommen und je nach Bedarf die Glukoseinfusionsrate adaptiert, um während der Messung unter hyperglykämischen Bedingungen eine möglichst konstante Plasmaglukosekonzentration von 180-250 mg/dl zu gewährleisten.

### 2.3 Versuchsablauf

Die Untersuchungen fanden im Institut für Neuroradiologie statt. Es wurde das Körpergewicht der Probanden kontrolliert, um den aktuellen BMI errechnen zu können. Anschließend wurde eine Venenverweilkanüle (BD Venflon™ Pro, 18 GA) in eine Handrückenvene und eine zweite in eine Antecubitalvene des kontralateralen Armes platziert. An beide Braunülen wurden lange dünne Schläuche sowie Dreiwegehähne angeschlossen, die Blutabnahmen sowie die Anpassung der Glukoseinfusion außerhalb des Probanden-Gesichtsfeldes ermöglichten.

Daraufhin wurde zur Bestimmung der Ausgangskonzentrationen von Insulin, C-Peptid, ACTH, Cortisol, Adrenalin, Noradrenalin, Laktat und VEGF Blut abgenommen. Anschließend wurde an die erste Braunüle eine langsam laufende Natriumchlorid-(NaCl)-Infusion (NaCl 0.9%, Berlin – Chemie AG, 12474 Berlin) angeschlossen, um die Durchgängigkeit der Braunüle zu gewährleisten. Die zweite Braunüle diente der späteren Glukoseinfusion (Glukoselösung 20%, DeltaSelect GmbH, Pfullingen) mittels Infusomat (SECURA, B. Braun, Melsungen). Der Proband nahm gerade ausgestreckt auf dem Untersuchungstisch des 1.5 Tesla Magnetresonanztomographen (Magnetom Symphony, Siemens Medical, Erlangen) Platz. Zur Messung des Phosphatstoffwechsels im visuellen Kortex und im Trapezmuskel mittels <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie wurde eine Oberflächenspule (Durchmesser 8 cm, Siemens Medical) in einer Schaumstoffummantelung unter den Hinterkopf bzw. die Schulter des Probanden platziert. Die Probanden waren angehalten, sich während der Messungen nicht zu bewegen und die Augen geöffnet zu halten.

Nach Beendigung der Baseline-Periode und einer Kontrolle der Nüchternblutzuckerkonzentration wurde mittels Infusomat die Glukoseinfusion mit einer Rate von 250-350 ml/h begonnen. Der Blutglukosespiegel wurde hierbei in 5-minütigen Intervallen mit Hilfe eines HemoCue (HemoCue AB, SE-262 23 Ängelholm, Schweden) überprüft. Sobald die

Blutzuckerkonzentration 180 mg/dl erreichte, wurde die Glukosezufuhr auf Werte zwischen 40-100 ml/h erniedrigt, um diesen Blutglukoselevel möglichst konstant zu halten. Durch engmaschige Blutzuckermessungen und gegebenenfalls notwendige Variationen der Glukoseinfusionsrate wurde gewährleistet, dass der Blutglukoselevel weitgehend konstant blieb. Bei Erreichen der Zielkonzentration der Blutglukose von 180-250 mg/dl wurde die zweite Messung der Phosphatstoffwechselmetaboliten im Trapezmuskel und im visuellen Kortex begonnen. Im Verlauf wurden innerhalb von 15 min 3 Blutproben in 5-minütigen Intervallen abgenommen, um die Verlaufskurven von VEGF, ACTH und Laktat bestimmen zu können. Adrenalin, Noradrenalin, Cortisol, Insulin und C-Peptid wurden einmal bei Erreichen der Zielkonzentration der Blutglukose bestimmt. Nach Beendigung der zweiten Messung wurde die Glukosezufuhr gestoppt und die Probanden solange überwacht, bis die Blutglukosekonzentration wieder im Normbereich lag.

#### **2.4 <sup>31</sup>P-Magnetresonanz-Spektroskopie**

Zur Durchführung der Messungen wurde ein 1.5 Tesla MR-Tomograph und eine Oberflächenspule in einem Schaumstoffformteil genutzt. Die durch <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie ermittelten Spektren der Kernresonanzen der Phosphatstoffwechselmetaboliten wurden von den Physikern Herrn Dr. rer. nat. Uwe H. Melchert und Herrn Dipl. Phys. Harald G. Scholand-Engler aus dem Institut für Neuroradiologie gemessen und ausgewertet. Die Spektren wurden über 128 Einzelmessungen (TR = 1500 ms, 1024 Datenpunkten, Bandbreite 4000 Hz) gemittelt und mit MRUI (Magnetic Resonance User Interface) nachverarbeitet<sup>65</sup>. Der Auswertalgorithmus AMARES (Advanced Method for Accurate, Robust and Efficient Spectral fitting)<sup>111</sup> wurde zur Berechnung der Spektren und Signalintensitäten genutzt.

## 2.5 Labormethoden

Das Serumröhrchen (S-Monovette, 2.6ml FE, Sarstedt, Numbrecht) wurde bis zur Verfestigung des abgenommenen Blutes bei Raumluft aufbewahrt und erst anschließend im Eisbad verstaut. Alle anderen Röhrchen wurden sofort im Eisbad gelagert. Innerhalb von 30 min wurden sie bei 1000 g und 6°C 10 min lang zentrifugiert (Labofuge 400R, Heraeus INSTRUMENTS, Osterode), anschließend in Eppendorf-Gefäße pipettiert und bis zur Durchführung der Messungen bei -24°C aufbewahrt.

Zur Bestimmung von VEGF und ACTH wurden Blutproben in Ethylenediaminetetraacetat (EDTA) enthaltene Röhrchen (S-Monovette 2.7ml K3E bzw. 9ml K3E, Sarstedt, Numbrecht) entnommen. Die späteren Messungen erfolgten durch Enzyme-Linked Immunsorbent Assays (ELISA). Bei den Bestimmungen des VEGF handelte es sich um immunometrische enzymatische Assays (VEGF inter-assay Variationskoeffizient (VK) 8.8%, intra-assay VK 6.7%, R&D Systems, Minneapolis, USA), bei ACTH um sequenzielle immunometrische Chemilumineszenz-Assays (ACTH inter-assay VK 8.8%, intra-assay 9.6%, Immulite, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim).

Die Proben für C-Peptid, Cortisol und Insulin wurden in Serumröhrchen abgenommen. Die Bestimmungen erfolgten ebenfalls mittels ELISA. Für die Messungen des C-Peptids und Cortisols wurde ein kompetitiver Chemilumineszenz-Immunoassay (C-Peptid inter-assay VK 14.4%, intra-assay VK 10.3%, Cortisol inter-assay VK 6.3%, intra-assay VK 5.8%, beides Immulite, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim) genutzt, für Insulin ein immunometrischer Chemilumineszenz-Assay (Insulin inter-assay VK 6.1%, intra-assay 5.2%, Immulite, DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim).

Die Blutproben für die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin wurden durch High Performance Liquid Chromatography (HPLC) bestimmt (Adrenalin inter-assay VK 6.5%, intra-

assay VK 7.9%, Noradrenalin inter-assay VK 5.9, intra-assay VK 3.9% ChromSystems, München).

Zur Bestimmung von Glukose und Laktat wurden enzymatische Routinelabormethoden eingesetzt (Glukose inter-assay VK 0.8%, intra-assay VK 0,8%, Laktat inter-assay VK 0,6%, intra-assay VK 0,5%, ABBOTT LABORATORIES, Wiesbaden). Um während des Versuchsablaufs Werte zu erhalten, wurden die Blutzuckerwerte mit Hilfe des HemoCue (HemoCue AB, Ängelholm) bestimmt.

## **2.6 Statistische Methoden**

Die Datenanalyse wurde mittels Superior Performance Software Systems (SPSS), Version 11.5, durchgeführt. Alle Werte wurden als Mittelwert +/- Standardfehler angegeben. Die Analyse der Hormonkonzentrationen basierten auf der Varianzanalyse für Messwiederholungen (Analysis of Variance, ANOVA). Die Daten aus den <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopiemessungen wurden Baseline-adjustiert, da die Stoffwechselfparameter PCr, ATP und PCr/Pi im Gehirn in geringeren Konzentrationen vorkommen als in der Muskulatur. Die Analyse der Phosphatstoffwechselfparameter basieren auf gepaarten T-Test-Vergleichen zwischen den Werten der Baseline-Messung und der Messung unter Hyperglykämie. Außerdem wurden die Gradienten zwischen Baseline- und Hyperglykämie-Messungen in den beiden Organen Hirn und Muskel mittels T-Test miteinander verglichen. Ein P-Wert < 0,05 gilt als signifikant.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Verlauf der Blutglukosekonzentration

Die Blutglukosekonzentration wurde ausgehend von einem Basalwert von  $95,53 \pm 1,2$  mg/dl innerhalb von ca. 15 min auf den gewünschten Zielwert von 180-250 mg/dl angehoben und bis zum Ende der  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie gehalten. Die durchschnittliche Glukosekonzentration betrug  $241,94 \pm 5,43$ .

### 3.2 Hormonkonzentrationen

Nach Erreichen des hyperglykämischen Zielwertes von 180-250 mg/dl war sowohl ein starker Anstieg der Serum-Insulinkonzentration ( $P < 0,001$ , Abb. 6), als auch ein Anstieg der Serumkonzentration des C-Peptids nachzuweisen ( $P < 0,001$ , Abb. 7). Die Laktatkonzentration stieg während der Hyperglykämie an (Anstieg von Baseline  $P = 0,021$ , Abb. 8).

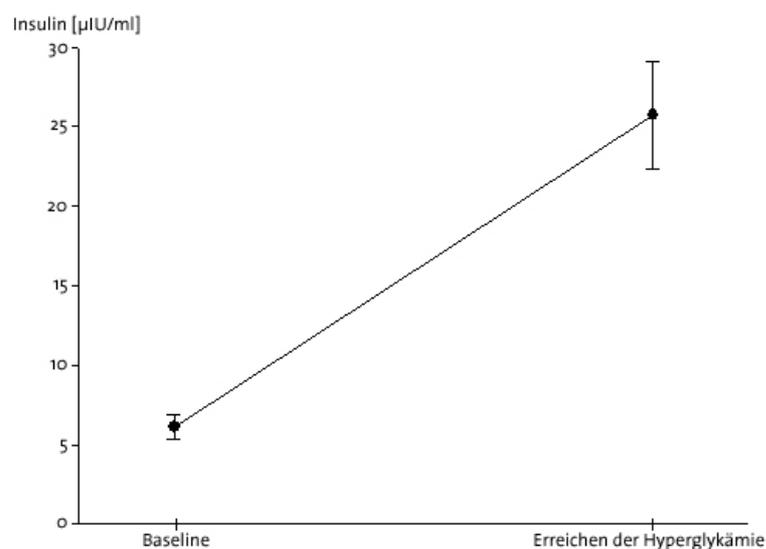
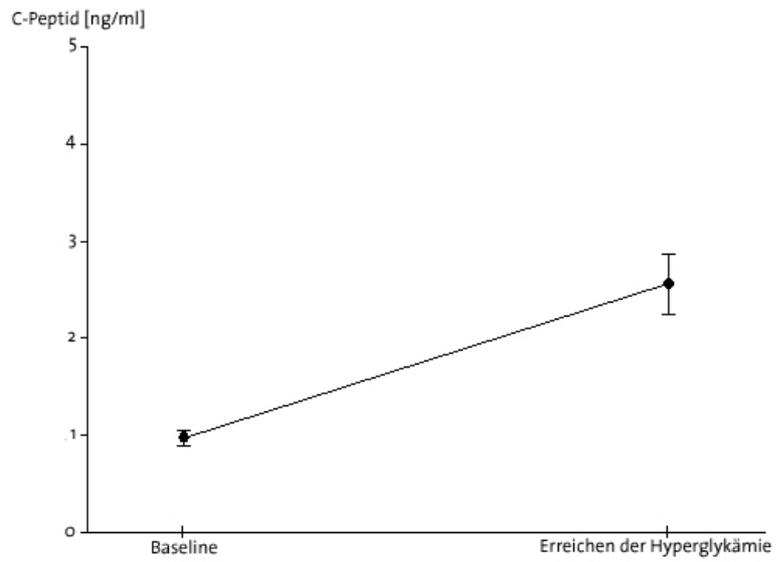
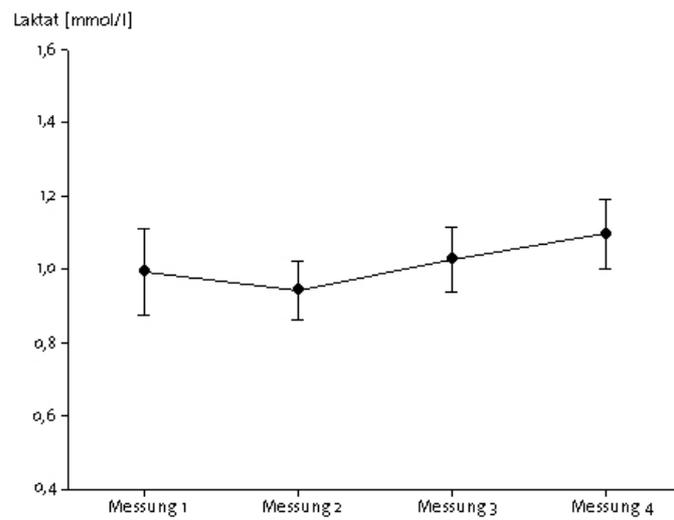


Abbildung 6: Verlauf der Serumkonzentration des Insulin



**Abbildung 7: Verlauf der Serumkonzentration des C-Peptid**



**Abbildung 8: Verlauf der Plasmakonzentration des Laktat**

Messung 1: Baseline, Messung 2-4: Plasmakonzentration während der Hyperglykämie, gemessen in 5-minütigen Abständen

Die Plasmakonzentrationen des VEGF fiel während der Hyperglykämie ab. Von der Baseline-Konzentration von  $51,18 \pm 11,49$  pg/ml zum Erreichen des Hyperglykämie-Niveaus wurde einen Abfall auf  $40,59 \pm 8,92$  pg/ml nachgewiesen ( $P = 0,041$ , Abb. 9). Zwischen der ersten und zweiten Blutabnahme während des hyperglykämischen Plateaus zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der vorhandenen VEGF-Konzentration, zum dritten Wert allerdings ließ sich ein erneuter Abfall beobachten (Abfall von Baseline zum ersten Wert  $P = 0,041$ . Abfall von Baseline zum 2. Wert  $P = 0,321$ , Abfall von Baseline zum 3. Wert  $P = 0,021$ ).

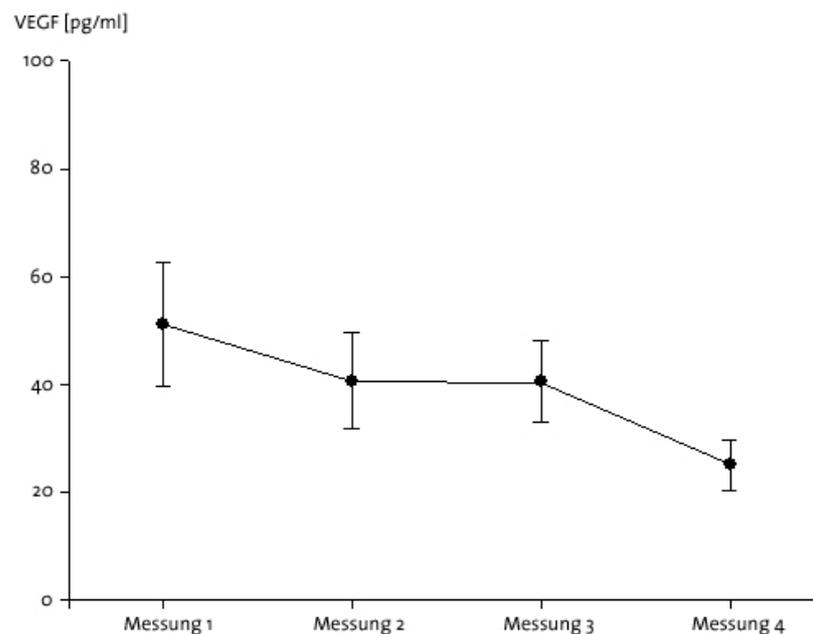
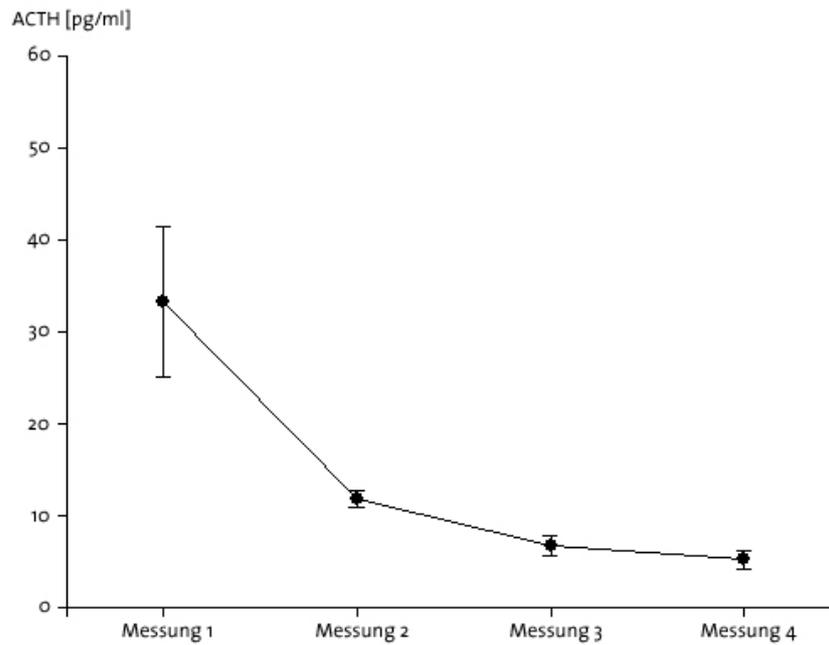


Abbildung 9: Verlauf der Plasmakonzentration des VEGF  
 Messung 1: Baseline, Messung 2-4: Plasmakonzentration während der Hyperglykämie, gemessen in 5-minütigen Abständen

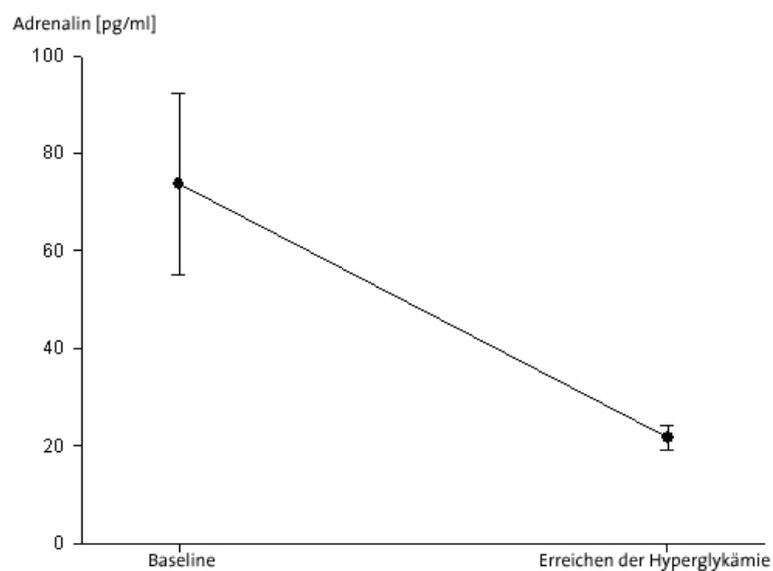
Die Messungen der Plasmakonzentrationen des ACTH während der Hyperglykämie verzeichneten einen Abfall ausgehend von einer Baseline-Konzentration von  $25,15 \pm 4,39$  pg/ml auf  $5,27 \pm 0,96$  pg/ml bei der letzten Blutabnahme (Abfall von Baseline bei allen Werten  $P < 0,001$ , Abb. 10).



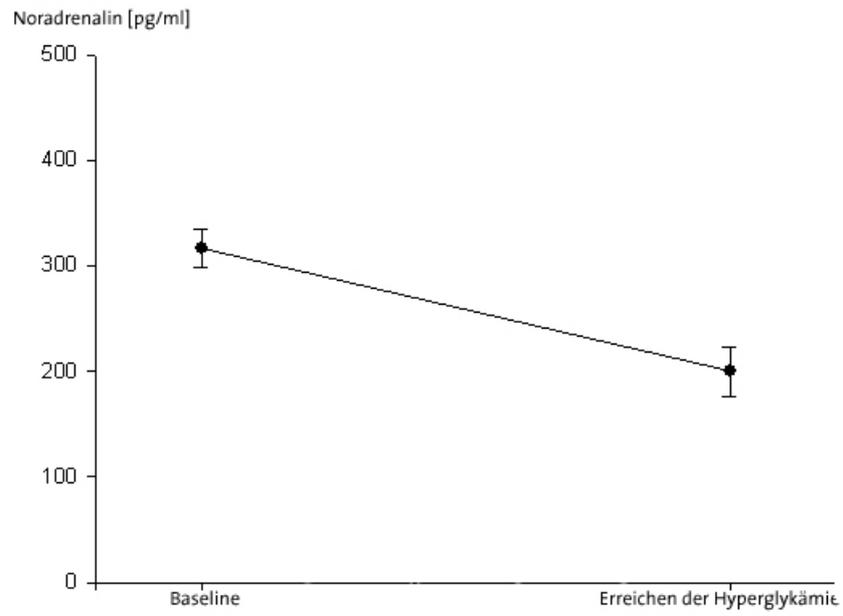
**Abbildung 10: Verlauf der Plasmakonzentration des ACTH**

Messung 1: Baseline, Messung 2-4: Plasmakonzentration während der Hyperglykämie, gemessen in 5-minütigen Abständen

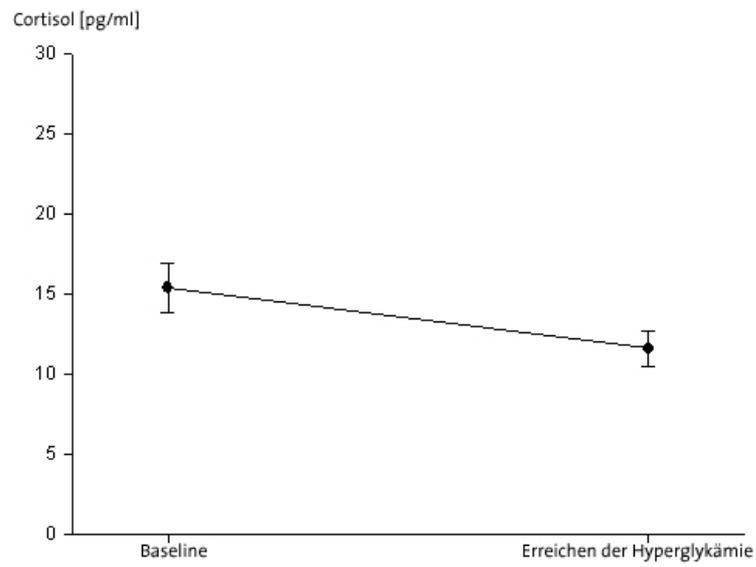
Die Konzentrationen der Stresshormone Adrenalin, Noradrenalin und Cortisol wurden bei Erreichen des hyperglykämischen Zielwertes gemessen. Alle drei Stresshormone wiesen im Vergleich zur Baseline einen signifikanten Abfall auf (Adrenalin:  $P = 0,014$ , Abb. 11, Noradrenalin:  $P < 0,001$ , Abb. 12, Cortisol:  $P = 0,006$ , Abb. 13).



**Abbildung 11: Verlauf der Plasmakonzentration des Adrenalin**



**Abbildung 12: Verlauf der Plasmakonzentration des Noradrenalin**



**Abbildung 13: Verlauf der Serumkonzentration des Cortisol**

### 3.3 <sup>31</sup>P-Magnetresonanz-Spektroskopie

Im Vergleich mit der Baseline-Messung war während der Hyperglykämie innerhalb des Gehirns ein Anstieg von PCr ( $P = 0.013$ ) nachzuweisen, während in der Muskulatur keine Änderung zu verzeichnen war ( $P = 0.149$ ). Der Vergleich der Gradienten der Hochenergiephosphatkonzentrationsänderungen in Gehirn und Muskulatur zeigte eine hohe Signifikanz ( $P = 0.005$  für den Vergleich Anstieg im Gehirn vs. Abfall im Muskel).

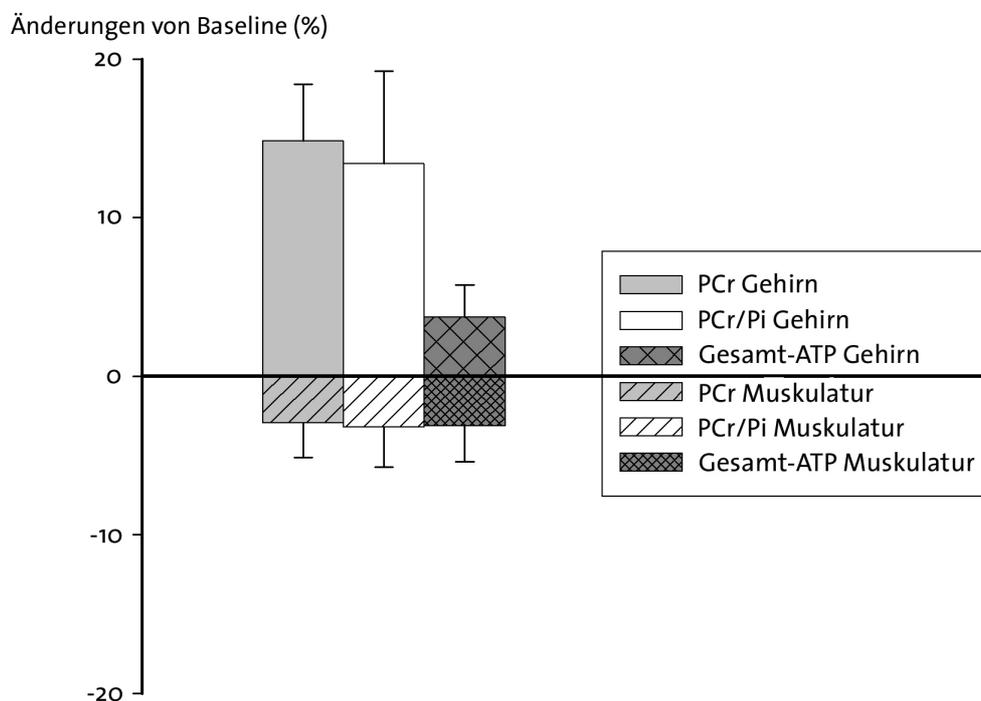


Abbildung 14: Zu- bzw. Abnahme der Hochenergiephosphatkonzentrationen während der Hyperglykämie in Gehirn und Muskulatur

Analog zu den Ergebnissen des PCr wies die Konzentration des Gesamt-ATP innerhalb des Gehirns den Trend eines Anstiegs ( $P = 0.096$ ) und in der Muskulatur keine Änderung der Konzentrationen auf ( $P = 0.194$ ). Wie bei der Auswertung des PCr war der Vergleich der Gradienten der Konzentrationsänderungen des Gesamt-ATP in Gehirn und Muskel signifikant ( $P = 0.018$  für den Vergleich Anstieg im Gehirn vs. Abfall in der Muskulatur).

Betrachtet man das Verhältnis von PCr/Pi, so werden hierdurch die von ATP und PCr erhaltenen Messungen bestätigt: Innerhalb des Gehirns zeigte sich ein signifikanter Anstieg von PCr/Pi ( $P = 0.047$ ), während in der Muskulatur die Hochenergiephosphatkonzentrationen keine Änderung zeigten ( $P = 0.176$ ). Der Vergleich der Gradienten in den beiden Organen war signifikant ( $P = 0.020$  für den Vergleich Anstieg im Gehirn vs. Abfall in der Muskulatur).

## 4 Diskussion

Unsere Studie zeigt, dass die Antwort des Hochenergiemetabolismus auf eine akute Hyperglykämie im Gehirn Unterschiede zu der Antwort des Metabolismus im Muskelgewebe aufweist. Unsere Ergebnisse demonstrieren, dass eine kurzzeitige Hyperglykämie im Gehirn einen Anstieg der Hochenergiephosphate, v.a. des PCr, im Bereich von 3.7% bis 14.8% bewirkt. In der Muskulatur hingegen blieb die Konzentration der Hochenergiephosphate stabil, es war eher ein tendenzieller Abfall (2.9% bis 3.2%) zu erkennen. Da die Probanden während des Versuchs geruht haben, kann dieser tendenzielle Abfall nicht durch einen Energieverbrauch während körperlicher Aktivität erklärt werden.

Unsere Ergebnisse des Energiemetabolismus innerhalb des Gehirns sind mit früheren Untersuchungen des Glukosemetabolismus konform: In Versuchen mit Ratten konnte gezeigt werden, dass während einer akuten Hyperglykämie die extrazelluläre Glukosekonzentration innerhalb des Gehirns ansteigt<sup>55,96</sup>. Allerdings ist Glukose nur eines der Substrate, die vom Gehirn als Energielieferant genutzt werden können, auch Ketone<sup>114</sup> und vor allem Laktat<sup>54,75</sup> können als Energiequelle dienen. Diaz-Parejo et al. konnten belegen, dass während einer vorübergehenden hyperglykämischen Phase ab einer Plasmaglukosekonzentration von 15 mmol/l (270 mg/dl) die intrazerebrale Laktatkonzentration anstieg<sup>16</sup>. Übereinstimmend zu diesen Untersuchungen konnte in unserer Studie als Antwort auf die Hyperglykämie ein signifikanter Anstieg des Plasma-Laktates bei den Probanden nachgewiesen werden. Dies entspricht Henry et al., die 1996 konstatierten, dass eine Hyperglykämie beim Gesunden in Adipozyten die Umsetzung von Glukose zu Laktat stimuliert<sup>32</sup>.

Im Bezug auf den in unserer Studie nachweisbaren Anstieg des PCr innerhalb des Gehirns stellt sich nun die Frage, aus welchem Grund die Konzentration des

Hochenergiephosphats ansteigt und nicht der Hypothese entsprechend konstant bleibt. In der Hierarchie der glukoseverbrauchenden Organe eines Organismus steht das Gehirn an oberster Stelle: Es reguliert den Energiemetabolismus mit dem Ziel, die eigene Energieversorgung konstant zu halten. Leybaert vertritt die These, dass der Glukosetransport über die BHS an den jeweiligen neuronalen Energiebedarf adaptiert wird<sup>49</sup>. Andere Studien widersprechen dieser These. Die Messungen von Jacob et al. zeigten, dass die Glukosekonzentration der extrazellulären Flüssigkeit des Gehirns von Ratten bei akuter Hyperglykämie der Konzentration des Plasmas entspricht<sup>38</sup>. Jacob et al. haben allerdings nicht einen dynamischen Verlauf gemessen, sondern nur einmal während einer akuten Hyperglykämie. Es wird also nicht geklärt, ob sich das Glukoseverhältnis von extrazellulärer Flüssigkeit zu Blutplasma bei prolongierter Hyperglykämie im Rahmen einer Adaptation der BHS verändert. Eine Erklärung für den Anstieg des PCr in unserer Studie könnte sein, dass übereinstimmend zu Jacob et al. die Glukosekonzentration des ZNS während der akut induzierten Hyperglykämie durchaus zunächst angestiegen ist. Diese Glukose stünde nun dem Energiemetabolismus des Gehirns zur Verfügung. Glukose kann intrazerebral durch Glykolyse zur Produktion von ATP genutzt oder durch Glykogensynthese zu Glykogen verstoffwechselt werden. Studien ergaben, dass die Glykogenreserven des Gehirns eine wichtige Rolle in der Energieversorgung des Gehirns spielen<sup>30</sup>. Das in den Astrozyten gespeicherte Glykogen kann im Bedarfsfall mobilisiert werden<sup>24</sup> und während einer Hypoglykämie die Glukoseversorgung des Gehirns bis zu 100 min sicherstellen<sup>30</sup>. Allerdings ist der Glykogenanteil im Gehirn geringer als in der Muskulatur (Glykogen stellt 1% der Muskelmasse und <1% der Masse des Gehirns dar). Daher ist anzunehmen, dass lediglich ein geringer Anteil der Glukose zu Glykogen verstoffwechselt wurde. Zudem wäre der Anstieg des PCr und der Trend eines Anstiegs des ATP nicht durch Glykogensynthese zu erklären. Es ist möglich, dass die zugeführte Glukose hauptsächlich durch Glykolyse zur Produktion von ATP genutzt wurde. Das Enzym Kreatinphosphokinase katalysiert die Reaktion von PCr und ADP zu Kreatin und ATP<sup>78</sup>. Diese Reaktion kann in beide Richtungen

ablaufen. Möglicherweise wurde das durch Glykolyse gebildete ATP genutzt, um die intrazerebrale Konzentration der Puffersubstanz PCr zu erhöhen. Voraussetzung hierfür ist die Annahme, die Glukoseutilisation bzw. der Energieverbrauch des Gehirns sei konstant. Frühere Studien untermauern diese Annahme: Es wurde gezeigt, dass der zerebrale Glukosemetabolismus im Rahmen einer akuten Hyperglykämie unbeeinflusst abläuft, wohingegen eine chronische Hyperglykämie über drei Wochen zu einem Abfall der Glukoseutilisation um 13% führte<sup>17</sup>.

Letztlich kann in unserer Studie nicht geklärt werden, ob der beobachtete Anstieg der PCr-Konzentration eine Folge von vermehrter neuronaler bzw. astrozytischer Glykolyse, verminderter neuronale Aktivität oder einem veränderten Glukosetransport über die BHS ist. Zu beachten ist weiterhin, dass nicht der Anstieg des Gesamt-ATP, sondern der des PCr signifikant war. Wäre eine vermehrte intrazerebrale Glykolyse die Ursache des PCr-Anstiegs, wäre vermutlich ein deutlicherer Anstieg des ATP-Gehaltes zu erwarten gewesen. Das PCr dient eher als Puffersubstanz, welche die ATP-Konzentration stabilisiert.

Das zweite wichtige Ergebnis unserer Studie stellt die überraschender Weise konstante Hochenergiephosphatkonzentration der Muskulatur während der Hyperglykämie trotz zugeführter Energie in Form von Glukose dar. Da nicht nur eine erhöhte Konzentration von Glukose, sondern auch von Insulin im Blut nachzuweisen war und die Konzentration der insulinantagonistischen Hormone wie Adrenalin und Cortisol verringert war, kann davon ausgegangen werden, dass die Glukose durch insulinvermittelte Aufnahme über GLUT 4 in die Muskelzellen gelangt ist und dort verstoffwechselt wurde. Geht man davon aus, dass im Gehirn der Anstieg der Hochenergiephosphate durch eine erhöhte glykolytische Aktivität verursacht wurde, erscheint es rätselhaft, warum dies in peripherem Gewebe während einer Hyperglykämie nicht ebenfalls geschehen ist. Eine Antwort für den fehlenden Anstieg von ATP und PCr könnte in den Glykogenspeichern der Muskulatur zu finden sein: Wird Glukose von der Muskulatur aufgenommen, kann sie im Rahmen der aeroben Energiegewinnung zu

ATP und Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>) oxidiert, durch anaerobe ATP-Synthese zu Laktat umgewandelt oder anaerob als Glykogen gespeichert werden. DeFronzo et al. konnten 1981 durch indirekte Messungen mittels Kalorimetrie in Kombination mit Femoralvenenkatheterisierung während eines euglykämischen Insulinclamps zeigen, dass die metabolisierte Glukose zum größten Teil anaerob gespeichert, d.h. für Glykogensynthese genutzt wurde<sup>14</sup>. Sie proklamierten, dass die Fähigkeit von Insulin, die aerobe Glykolyse anzuregen, begrenzt ist und das weitere Ansteigen der Blutglukosekonzentration in Kombination mit ansteigenden Insulinspiegeln zunehmend zu anaerobem Glukosemetabolismus – und damit zu einem Laktatanstieg – und zur Glukosespeicherung, wahrscheinlich in der Muskulatur, führt<sup>14</sup>. Weiterführende Versuche bestätigen diese These: Sie konnten belegen, dass mit zunehmender Insulinkonzentration der anaerobe Glukosemetabolismus und die Glukosespeicherung weiter zunehmen, während die maximale Rate der Glukoseoxidation innerhalb des physiologischen Bereichs der Insulinkonzentration erreicht ist<sup>107</sup>. In diesem Versuch wurde ebenfalls gezeigt, dass grundsätzlich, d.h. bei allen gemessenen Insulinkonzentrationen, die Glukosespeicherung als Glykogen über 60-70% der gesamten Glukoseaufnahme ausmacht<sup>107</sup>. Nachfolgend haben Shulman et al. 1990 die Glykogensyntheserate im Verhältnis zum Anstieg der Plasmaglukose durch <sup>13</sup>C-Nuklear-Magnetresonanz-Spektroskopie direkt unter den Bedingungen eines hyperglykämisch-hyperinsulinämischen Clamps gemessen und kamen zu dem Ergebnis, dass sowohl beim Gesunden als auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 die Glukose hauptsächlich anaerob durch die Synthese von Muskelglykogen metabolisiert wurde, wobei die Glykogensyntheserate bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 herabgesetzt war<sup>94</sup>. Die Erkenntnis, dass zugeführte Glukose peripher hauptsächlich anaerob verstoffwechselt und als Glykogen gespeichert wird zusammen mit der Tatsache, dass sowohl der Glukosetransport an der Muskulatur mittels GLUT 4<sup>93</sup>, als auch die Glykogensynthese insulinabhängig sind<sup>6;53</sup>, führen in unserer Studie zu der Annahme, dass die Glukose peripher vor allem den Glykogenreserven zugeführt wurde. Der in unserer

Studie gemessene Anstieg von Laktat kann im Rahmen der erhöhten anaeroben Glukosemetabolisierung von Glukose zu Laktat erklärt werden. Die Studie von Rothman et al. ist mit unseren Ergebnissen konform<sup>83</sup>: Während eines hyperglykämisch-hyperinsulinämischen Clamps wurde bei Gesunden und bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 eine <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie in der Muskulatur (M. gastrocnemius) durchgeführt und ATP, PCr, Pi sowie Glukose-6-Phosphat, ein Zwischenprodukt der Glykogensynthese, gemessen. Hierbei wurde, wie in unserer Studie, trotz zugeführter Glukose und erhöhter Plasma-Insulinkonzentration kein Anstieg des PCr oder ATP gemessen. Rothman et al. fanden einen Abfall des PCr – unsere Ergebnisse zeigen einen tendenziellen Abfall von 2.9% bis 3.2% – sowie einen Anstieg von Pi und Glukose-6-Phosphat.

Unsere Ergebnisse, die auf eine divergierende Antwort des Energiemetabolismus in Hirn und Muskulatur hinweisen, bestätigen die Hypothese, dass der Stoffwechsel des Gehirns von dem der Peripherie getrennt reguliert wird. Bisherige Studien des Energiemetabolismus durch <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie fokussierten entweder das Gehirn<sup>5;50;60;61;98</sup> oder die Muskulatur<sup>36;51;56;77;85</sup> bei verschiedenen Erkrankungen, stellten aber keinen Vergleich zwischen Gehirn und Peripherie her. Erst eine aktuelle Studie konnte zeigen, dass im Vergleich von Gehirn- zu Muskelgewebe im Rahmen einer akuten Hypoglykämie ein Shift der Hochenergie-Phosphate PCr und Gesamt-ATP zugunsten des Gehirns induziert wird<sup>69</sup>. Beide Studien demonstrieren einen Vorrang des Gehirns bei der Verteilung endogener Energieressourcen und damit den von uns zugrunde gelegten Vorgang der Allokation.

Der signifikante Abfall der VEGF-Konzentration im Rahmen einer akuten Hyperglykämie ist zwar hypothesengerecht, steht aber in Widerspruch zu bisherigen Untersuchungen in vitro, die zeigen, dass eine hohe Glukosekonzentration einen stimulierenden Effekt auf die VEGF-Expression oder -Konzentration hat<sup>35;45</sup>. Der Zusammenhang zwischen Glukosemetabolismus und VEGF-Regulation ist letztlich noch nicht geklärt. V.a. die Rolle des VEGF in der Pathogenese des Diabetes mellitus wird widersprüchlich diskutiert. Williams et al.

vertraten 1997 die These, dass der von ihnen in vitro nachgewiesene Anstieg der VEGF-mRNA-Expression bei Hyperglykämie darauf hindeute, dass VEGF durch seine Fähigkeit, die endotheliale Permeabilität und die Angiogenese zu steigern, zur Verstärkung von Neovaskularisation und endothelialen Dysfunktionen bei der diabetischen Mikroangiopathie beiträgt<sup>118</sup>. Umgekehrt gibt es Hinweise darauf, dass die Gabe von Wachstumsfaktoren wie dem VEGF ischämische Symptome der koronararteriellen Makroangiopathie wie die Angina pectoris verbessern kann<sup>19</sup>. Freedman et al. haben 2002 gezeigt, dass sich durch die Gabe von VEGF die Symptomatik von Patienten im Endstadium der KHK verbesserte, wahrscheinlich, weil durch Neovaskularisation die Perfusion zunahm<sup>27</sup>. Die Gabe von VEGF scheint nicht nur die Makroangiopathie zu verbessern. Es gibt Hinweise darauf, dass VEGF auch auf die Regulation des Körpergewichts positive Effekte hat: Hubold et al. konnten 2006 zeigen, dass hohe VEGF-Konzentrationen im Plasma bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit geringerer Aufnahme von Kohlenhydraten und niedrigerem Körpergewicht korreliert<sup>33</sup>.

Im Bezug auf den signifikanten Abfall des VEGF während der Hyperglykämie in unserer Studie stellt sich die Frage, was die Ursache für diesen Abfall ist. Williamson et al. postulierten 1993, dass eine Hyperglykämie aufgrund eines Anstiegs des zellulären Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-(NADH<sup>+</sup>/NAD<sup>+</sup>)-Verhältnisses einen pseudohypoxischen Zustand hervorruft<sup>120</sup>. Oltmanns et al. zeigten 2006, dass die VEGF-Konzentration im Plasma während einer akuten Hypoxie absinkt<sup>68</sup>. Eine durch Hyperglykämie ausgelöste Pseudohypoxie wäre somit eine mögliche Erklärung für den von uns gemessenen Abfall des Plasma-VEGF. Eine weitere Erklärung könnte der Abfall der Stresshormonkonzentration während der Hyperglykämie darstellen, da es Hinweise darauf gibt, dass die Stressachsen einen stimulierenden Einfluss auf die VEGF-Sekretion haben<sup>12</sup>. Durch eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems wird ein stimulatorischer Reiz zur VEGF-Produktion und -Freisetzung ausgeübt<sup>2;26;108</sup>. Da in unserer Studie die Konzentration der Stresshormone im

Plasma während der Hyperglykämie gesunken ist, könnte dies eine weitere Erklärung für den VEGF-Abfall in unserer Studie darstellen.

Die Hypothese, das Gehirn regle die Konstanthaltung seines Energiemetabolismus über eine Veränderung der VEGF-Konzentration und die daraus resultierende Regulation des GLUT 1, kann durch unsere Studie nicht geklärt werden. Der in unserer Studie gemessene Abfall des VEGF könnte auf den Beginn einer gegenregulatorischen Suppression des GLUT 1 hinweisen, dessen verzögerter Abfall mit einer konsekutiv verminderten Glukoseaufnahme aufgrund der Kürze unserer Studie nicht erfasst wurde. Da während einer Hypoglykämie die VEGF-Konzentration ansteigt<sup>12;59</sup> und als Folge dessen der Glukosetransport an der BHS mittels GLUT 1<sup>100</sup>, um die Glukoseaufnahme in das ZNS zu erhöhen, kann spekuliert werden, dass in unserer Studie durch die Hyperglykämie eine Verringerung der VEGF-Sekretion ausgelöst wurde, um den Glukoseeinstrom in das ZNS durch eine Verminderung der GLUT 1 an der BHS zu reduzieren und dadurch einer Überlast an Glukose innerhalb des Gehirns vorzubeugen.

Der während der Hyperglykämie messbare signifikante Abfall von ACTH und folglich auch von Cortisol sowie von Adrenalin und Noradrenalin in unserer Studie ist vergleichbar mit früheren Untersuchungen. Laugero et al. zeigten 2001, dass durch Zufuhr von Saccharose (engl. Sucrose, der „Kristallzucker“,  $\beta$ -D-Fructofuranosyl- $\alpha$ -D-Glucopyranosid) – nicht aber von nonnutritivem Saccharin – die Aktivität der Stressachsen bei Ratten reduziert werden kann: Durch die erhöhte Aufnahme von Saccharose bei adrenaletomierten Ratten mit konsekutiv erhöhtem ACTH-Level normalisierte sich die Konzentration von ACTH<sup>46</sup>. Dallman et al. konnten 2005 zeigen, dass im Falle von chronischen Stressoren oder erhöhten Glukocorticoidspiegeln durch die Aufnahme von so genannten „comfort foods“, d.h. saccharosehaltiger Nahrung, die Aktivität der HHN-Achse und damit die Konzentration der zirkulierenden Glukocorticoide verringert wird<sup>11</sup>. Dies stützt unsere These, das Gehirn regle seine energetische Versorgung unter anderem über die Aktivität der Stressachsen. Der

Abfall der Stressachsenaktivität in unserer Studie ist hypothesenkonform: Wenn das Gehirn im Rahmen eines Energiemangels die Aktivität der Stressachsen erhöht, um sich selbst mehr Energie zuzuführen, wäre anzunehmen, dass im Fall eines erhöhten Angebots an Energie – wie in unserer Studie im Rahmen einer akuten Hyperglykämie – die Aktivität der Stressachsen vermindert wird.

Zusammenfassend zeigt unsere Studie, dass eine akute Hyperglykämie zu divergierenden Veränderungen der Hochenergiephosphatkonzentrationen im ZNS und in der Peripherie führt. Die Hypothese, dass während einer akuten Hyperglykämie der Energiemetabolismus im Gehirn konstant bleibt, wird durch unsere Ergebnisse nicht bestätigt. Allerdings wird durch unsere Studie die Hypothese, der Energiestoffwechsel der Peripherie und des ZNS seien getrennt voneinander zu betrachten, gestützt. Wie erwartet war zum einen ein Abfall der Stressachsen und zum anderen ein Absinken der VEGF-Konzentration zu messen. Es kann spekuliert werden, dass hierdurch der Glukoseeinstrom in das ZNS verringert werden sollte. Ebenso sind unsere Ergebnisse mit dem Paradigma des „Selfish Brain“ konform, in dem angenommen wird, dass das Gehirn mittels Allokation der eigenen Energieversorgung Vorrang gibt. Wäre dies ein Grundprinzip, könnte es im Bezug auf die weitere Erforschung der Pathogenese des Metabolischen Syndroms und der Adipositas einen neuen, viel versprechenden Ansatz darstellen: Eine Störung in der zerebralen Energieallokation, wie z.B. eine nicht ausreichende Substratversorgung des Gehirns, würde dem Gehirn einen Mangelzustand signalisieren und gegenregulatorische Mechanismen induzieren. Solche Mechanismen könnten die Aktivierung von hypothalamischen Appetitzentren mit der Folge einer Gewichtszunahme oder die Aktivierung der Stressachsen darstellen.

Es wäre für zukünftige Studien nun wichtig zu überprüfen, ob und inwieweit diese Regulationsmechanismen über VEGF und die Stressachsen bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 oder Adipositas verändert sind und inwiefern die Änderungen der Hochenergiephosphatkonzentrationen während einer Intervention wie Hypo- oder

Hyperglykämie von den Veränderungen bei gesunden Probanden abweichen. Aufbauend auf unseren Ergebnissen könnten neue Erkenntnisse über die Pathogenese von Erkrankungen wie Adipositas und deren Folgeerkrankungen wie dem Metabolischen Syndrom gewonnen werden und durch das verbesserte Verständnis der Pathogenese den Patienten suffizientere Möglichkeiten zur Prävention angeboten werden.

## 5 Zusammenfassung

Die Pathogenese des Metabolischen Syndroms konnte bis jetzt nicht geklärt werden. Basierend auf dem Paradigma des „Selfish Brain“ nehmen wir an, dass das Gehirn durch Allokation mittels Aktivität der Stressachsen und Konzentration des Vascular Endothelial Growth Factors seine Energieversorgung reguliert. Analog zu früheren Ergebnissen unter Hypoglykämie wollen wir zeigen, dass eine akute Hyperglykämie zu divergierenden Energieantworten innerhalb des Gehirns und der Muskulatur führt und somit den Vorrang des Gehirns bei der Verteilung endogener Energieressourcen demonstrieren.

Um diese Hypothese zu überprüfen, wurde der Energiestoffwechsel von 23 gesunden männlichen Probanden in Gehirn und Muskulatur vor und während einer kontrollierten Hyperglykämie mittels <sup>31</sup>Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie sowie die Konzentration der Stresshormone und des Vascular Endothelial Growth Factors gemessen. Im Vergleich zur Baseline-Messung war während der Hyperglykämie innerhalb des Gehirns eine erhöhte Konzentration der Hochenergiephosphate nachzuweisen, wohingegen die Konzentration in der Muskulatur stabil blieb. Die Plasmakonzentration der Stresshormone und des Vascular Endothelial Growth Factors sank während der Hyperglykämie signifikant ab.

Unsere Studie stützt die Hypothese, der Energiestoffwechsel der Peripherie und des Gehirns seien getrennt voneinander zu betrachten, und das Paradigma des „Selfish Brain“, in dem postuliert wird, dass das Gehirn mittels Allokation der eigenen Energieversorgung Vorrang gibt. Wäre dies ein Grundprinzip, würde eine Störung der zerebralen Energieallokation kompensatorisch zur Aktivierung von hypothalamischen Appetitzentren mit der Folge einer Gewichtszunahme oder zur Aktivierung der Stressachsen führen, um die Energieversorgung des Gehirns konstant zu halten. Unsere Ergebnisse könnten somit neue Hinweise auf die Pathogenese von Übergewicht und deren Folgeerkrankungen wie dem Metabolischen Syndrom geben.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Amoroso S, Schmid-Antomarchi H, Fosset M, Lazdunski M. Glucose, sulfonylureas, and neurotransmitter release: role of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. *Science*. 1990; 247: 852-854
2. Asano A, Morimatsu M, Nikami H, Yoshida T, Saito M. Adrenergic activation of vascular endothelial growth factor mRNA expression in rat brown adipose tissue: implication in cold-induced angiogenesis. *Biochem J*. 1997; 328: 179-183
3. Baron AD, Wallace P, Brechtel G. In vivo regulation of non-insulin-mediated and insulin-mediated glucose uptake by cortisol. *Diabetes*. 1987; 36: 1230-1237
4. Baron AD, Wallace P, Olefsky JM. In vivo regulation of non-insulin-mediated and insulin-mediated glucose uptake by epinephrine. *J Clin Endocrinol Metab*. 1987; 64: 889-895
5. Bischof MG, Mlynarik V, Brehm A, Bernroider E, Krssak M, Bauer E, Madl C, Bayerle-Eder M, Waldhausl W, Roden M. Brain energy metabolism during hypoglycaemia in healthy and type 1 diabetic subjects. *Diabetologia*. 2004; 47: 648-651
6. Bogardus C, Lillioja S, Stone K, Mott D. Correlation between muscle glycogen synthase activity and in vivo insulin action in man. *J Clin Invest*. 1984; 73: 1185-1190
7. Bray GA. OBESITY. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Harrison`s PRINCIPLES of INTERNAL MEDICINE*. 14<sup>TH</sup> EDITION, The McGraw-Hill Companies, USA 1998; 454-462
8. Capaldo B, Napoli R, Guida R, Di Bonito P, Antonello S, Auletta M, Pardo F, Rendina V, Sacca L. Forearm muscle insulin resistance during hypoglycemia: role of adrenergic mechanisms and hypoglycemia per se. *Am J Physiol*. 1995; 268: E248-E254
9. Clauss M, Gerlach M, Gerlach H, Brett J, Wang F, Familletti PC, Pan YC, Olander JV, Connolly DT, Stern D. Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that

- induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. *J Exp Med.* 1990; 172: 1535-1545
10. Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdan MG, Diano S, Horvath TL, Cone RD, Low MJ. Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature.* 2001; 411: 480-484
  11. Dallman MF, Pecoraro NC, la Fleur SE. Chronic stress and comfort foods: self-medication and abdominal obesity. *Brain Behav Immun.* 2005; 19: 275-280
  12. Dantz D, Bewersdorf J, Fruehwald-Schultes B, Kern W, Jelkmann W, Born J, Fehm HL, Peters A. Vascular endothelial growth factor: a novel endocrine defensive response to hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87: 835-840
  13. De Vivo DC, Trifiletti RR, Jacobson RI, Ronen GM, Behmand RA, Harik SI. Defective glucose transport across the blood-brain barrier as a cause of persistent hypoglycorrhachia, seizures, and developmental delay. *N Engl J Med.* 1991; 325: 703-709
  14. DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J, Felber JP. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes.* 1981; 30: 1000-1007
  15. Deibert DC, DeFronzo RA. Epinephrine-induced insulin resistance in man. *J Clin Invest.* 1980; 65: 717-721
  16. Diaz-Parejo P, Stahl N, Xu W, Reinstrup P, Ungerstedt U, Nordstrom CH. Cerebral energy metabolism during transient hyperglycemia in patients with severe brain trauma. *Intensive Care Med.* 2003; 29: 544-550
  17. Duckrow RB, Bryan RM Jr. Regional cerebral glucose utilization during hyperglycemia. *J Neurochem.* 1987; 48: 989-993

18. Duelli R, Maurer MH, Staudt R, Heiland S, Duembgen L, Kuschinsky W. Increased cerebral glucose utilization and decreased glucose transporter Glut1 during chronic hyperglycemia in rat brain. *Brain Res.* 2000; 858: 338-347
19. Duh E, Aiello LP. Vascular endothelial growth factor and diabetes: the agonist versus antagonist paradox. *Diabetes.* 1999; 48: 1899-1906
20. Eleff SM, Barker PB, Blackband SJ, Chatham JC, Lutz NW, Johns DR, Bryan RN, Hurko O. Phosphorus magnetic resonance spectroscopy of patients with mitochondrial cytopathies demonstrates decreased levels of brain phosphocreatine. *Ann Neurol.* 1990; 27: 626-630
21. Ferrara N, Henzel WJ. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 161: 851-858
22. Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev.* 1992; 13: 18-32
23. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr Rev.* 2004; 25: 581-611
24. Forsyth RJ. Astrocytes and the delivery of glucose from plasma to neurons. *Neurochem Int.* 1996; 28: 231-241
25. Foster DW. DIABETES MELLITUS. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. *Harrison`s PRINCIPLES of INTERNAL MEDICINE. 14<sup>TH</sup> EDITION*, The McGraw-Hill Companies, USA 1998; 2060-2081
26. Fredriksson JM, Lindquist JM, Bronnikov GE, Nedergaard J. Norepinephrine induces vascular endothelial growth factor gene expression in brown adipocytes through a beta -adrenoreceptor/cAMP/protein kinase A pathway involving Src but independently of Erk1/2. *J Biol Chem.* 2000; 275: 13802-13811

27. Freedman SB, Isner JM. Therapeutic angiogenesis for coronary artery disease. *Ann Intern Med.* 2002; 136: 54-71
28. Gerhart DZ, LeVasseur RJ, Broderius MA, Drewes LR. Glucose transporter localization in brain using light and electron immunocytochemistry. *J Neurosci Res.* 1989; 22: 464-472
29. Gjedde A, Crone C. Blood-brain glucose transfer: repression in chronic hyperglycemia. *Science.* 1981; 214: 456-457
30. Gruetter R. Glycogen: the forgotten cerebral energy store. *J Neurosci Res.* 2003; 74: 179-183
31. Hauner H, Scherbaum WA. Metabolisches Syndrom. In: Alexander K, Daniel WG, Diener H-C, Freund M, Köhler H, Matern S, Maurer HH, Michel BA, Nowak D, Risler T, Schaffner A, Scherbaum WA, Sybrecht GW, Wolfram G, Zeitz M. *Thiemes Innere Medizin.* 1. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1999; 316-322
32. Henry S, Schneiter P, Jequier E, Tappy L. Effects of hyperinsulinemia and hyperglycemia on lactate release and local blood flow in subcutaneous adipose tissue of healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996; 81: 2891-2895
33. Hubold C, Oltmanns KM, Schultes B, Jelkmann W, Born J, Fehm HL, Schweiger U, Peters A. High plasma VEGF relates to low carbohydrate intake in patients with type 2 diabetes. *Int J Obes (Lond).* 2006; 30: 1356-1361
34. Ibrahim N, Bosch MA, Smart JL, Qiu J, Rubinstein M, Ronnekleiv OK, Low MJ, Kelly MJ. Hypothalamic proopiomelanocortin neurons are glucose responsive and express K(ATP) channels. *Endocrinology.* 2003; 144: 1331-1340
35. Iglesias-de la Cruz MC, Ziyadeh FN, Isono M, Kouahou M, Han DC, Kalluri R, Mundel P, Chen S. Effects of high glucose and TGF-beta1 on the expression of collagen IV and vascular endothelial growth factor in mouse podocytes. *Kidney Int.* 2002; 62: 901-913

36. Iosifescu DV, Renshaw PE.  $^{31}\text{P}$ -magnetic resonance spectroscopy and thyroid hormones in major depressive disorder: toward a bioenergetic mechanism in depression? *Harv Rev Psychiatry*. 2003; 11: 51-63
37. Iribarren C, Karter AJ, Go AS, Ferrara A, Liu JY, Sidney S, Selby JV. Glycemic control and heart failure among adult patients with diabetes. *Circulation*. 2001; 103: 2668-2673
38. Jacob RJ, Fan X, Evans ML, Dziura J, Sherwin RS. Brain glucose levels are elevated in chronically hyperglycemic diabetic rats: no evidence for protective adaptation by the blood brain barrier. *Metabolism*. 2002; 51: 1522-1524
39. Jiang C, Haddad GG. Modulation of  $\text{K}^+$  channels by intracellular ATP in human neocortical neurons. *J Neurophysiol*. 1997; 77: 93-102
40. Junqueira LC, Carneiro J, Schiebler TH. Ventrikel, Meningen, Gefäße. In: Junqueira LC, Carneiro J, Schiebler TH. *Histologie*. 4. Auflage, Springer-Verlag, Berlin 1996; 714-719
41. Kato T, Inubushi T, Kato N. Magnetic resonance spectroscopy in affective disorders. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 1998; 10: 133-147
42. Keller-Wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev*. 1984; 5: 1-24
43. Kemp GJ. Non-invasive methods for studying brain energy metabolism: what they show and what it means. *Dev Neurosci*. 2000; 22: 418-428
44. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature*. 1993; 362: 841-844
45. Kim NH, Jung HH, Cha DR, Choi DS. Expression of vascular endothelial growth factor in response to high glucose in rat mesangial cells. *J Endocrinol*. 2000; 165: 617-624
46. Laugero KD, Bell ME, Bhatnagar S, Soriano L, Dallman MF. Sucrose ingestion normalizes central expression of corticotropin-releasing-factor messenger ribonucleic

- acid and energy balance in adrenalectomized rats: a glucocorticoid-metabolic-brain axis? *Endocrinology*. 2001; 142: 2796-2804
47. Lembo G, Capaldo B, Rendina V, Iaccarino G, Napoli R, Guida R, Trimarco B, Sacca L. Acute noradrenergic activation induces insulin resistance in human skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1994; 266: E242-E247
48. Levin BE, Dunn-Meynell AA, Routh VH. Brain glucose sensing and body energy homeostasis: role in obesity and diabetes. *Am J Physiol*. 1999; 276: R1223-R1231
49. Leybaert L. Neurobarrier coupling in the brain: a partner of neurovascular and neurometabolic coupling? *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005; 25: 2-16
50. Lodi R, Montagna P, Soriani S, Iotti S, Arnaldi C, Cortelli P, Pierangeli G, Patuelli A, Zaniol P, Barbiroli B. Deficit of brain and skeletal muscle bioenergetics and low brain magnesium in juvenile migraine: an in vivo <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy interictal study. *Pediatr Res*. 1997; 42: 866-871
51. Lodi R, Schapira AH, Manners D, Styles P, Wood NW, Taylor DJ, Warner TT. Abnormal in vivo skeletal muscle energy metabolism in Huntington's disease and dentatorubropallidolusian atrophy. *Ann Neurol*. 2000; 48: 72-76
52. Magistretti PJ, Pellerin L, Rothman DL, Shulman RG. Energy on demand. *Science*. 1999; 283: 496-497
53. Mandarino LJ, Wright KS, Verity LS, Nichols J, Bell JM, Kolterman OG, Beck-Nielsen H. Effects of insulin infusion on human skeletal muscle pyruvate dehydrogenase, phosphofructokinase, and glycogen synthase. Evidence for their role in oxidative and nonoxidative glucose metabolism. *J Clin Invest*. 1987; 80: 655-663
54. Maran A, Cranston I, Lomas J, Macdonald I, Amiel SA. Protection by lactate of cerebral function during hypoglycaemia. *Lancet*. 1994; 343: 16-20

55. Mason GF, Behar KL, Rothman DL, Shulman RG. NMR determination of intracerebral glucose concentration and transport kinetics in rat brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992; 12: 448-455
56. Matthews PM, Berkovic SF, Shoubridge EA, Andermann F, Karpati G, Carpenter S, Arnold DL. In vivo magnetic resonance spectroscopy of brain and muscle in a type of mitochondrial encephalomyopathy (MERRF). *Ann Neurol.* 1991; 29: 435-438
57. Mayhan WG. VEGF increases permeability of the blood-brain barrier via a nitric oxide synthase/cGMP-dependent pathway. *Am J Physiol.* 1999; 276: C1148-C1153
58. Melchert UH, Brinkmann G, Forger K, Gleim M, Wunsch-Binder F, Maier C, Zick G. In vivo <sup>31</sup>-phosphorus MR spectroscopy of the calf musculature in arterial occlusive diseases. *Rofo.* 1992; 156: 346-352
59. Merl V, Peters A, Oltmanns KM, Kern W, Hubold C, Fehm HL, Born J, Schultes B. Antecedent hypoglycaemia attenuates vascular endothelial growth factor response to subsequent hypoglycaemia in healthy men. *Diabet Med.* 2005; 22: 1278-1281
60. Montagna P, Lodi R, Cortelli P, Pierangeli G, Iotti S, Cevoli S, Zaniol P, Barbiroli B. Phosphorus magnetic resonance spectroscopy in cluster headache. *Neurology.* 1997; 48: 113-118
61. Montagna P. Magnetic resonance spectroscopy in migraine. *Cephalalgia.* 1995; 15: 323-327
62. Morgello S, Uson RR, Schwartz EJ, Haber RS. The human blood-brain barrier glucose transporter (GLUT<sub>1</sub>) is a glucose transporter of gray matter astrocytes. *Glia.* 1995; 14: 43-54
63. Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological functions of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev.* 1984; 5: 25-44

64. Murohara T, Horowitz JR, Silver M, Tsurumi Y, Chen D, Sullivan A, Isner JM. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin. *Circulation*. 1998; 97: 99-107
65. Naressi A, Couturier C, Devos JM, Janssen M, Mangeat C, de Beer R, Graveron-Demilly D. Java-based graphical user interface for the MRUI quantitation package. *MAGMA*. 2001; 12: 141-152
66. Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS. Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science*. 1997; 278: 135-138
67. Oltmanns KM, Dodt B, Schultes B, Raspe HH, Schweiger U, Born J, Fehm HL, Peters A. Cortisol correlates with metabolic disturbances in a population study of type 2 diabetic patients. *Eur J Endocrinol*. 2006; 154: 325-331
68. Oltmanns KM, Gehring H, Rudolf S, Schultes B, Hackenberg C, Schweiger U, Born J, Fehm HL, Peters A. Acute hypoxia decreases plasma VEGF concentration in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2006; 290: E434-E439
69. Oltmanns KM, Melchert UH, Scholand-Engler HG, Guenther C, Schultes B, Petersen D, Schweiger U, Born J, Fehm HL, Peters A. The Selfish Brain: energy shift during hypoglycaemia. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2005; 113: 494
70. Orth DN. Cushing's syndrome. *N Engl J Med*. 1995; 332: 791-803
71. Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR. Brain-type glucose transporter (GLUT-1) is selectively localized to the blood-brain barrier. Studies with quantitative western blotting and in situ hybridization. *J Biol Chem*. 1990; 265: 18035-18040
72. Pardridge WM, Triguero D, Farrell CR. Downregulation of blood-brain barrier glucose transporter in experimental diabetes. *Diabetes*. 1990; 39: 1040-1044

73. Pekala P, Marlow M, Heuvelman D, Connolly D. Regulation of hexose transport in aortic endothelial cells by vascular permeability factor and tumor necrosis factor- $\alpha$ , but not by insulin. *J Biol Chem.* 1990; 265: 18051-18054
74. Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994; 91: 10625-10629
75. Pellerin L, Pellegrini G, Martin JL, Magistretti PJ. Expression of monocarboxylate transporter mRNAs in mouse brain: support for a distinct role of lactate as an energy substrate for the neonatal vs. adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95: 3990-3995
76. Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, Schultes B, Born J, Fehm HL. The selfish brain: competition for energy resources. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004; 28: 143-180
77. Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2004; 350: 664-671
78. Petrides PE. Herkunft der für den Kontraktions-Relaxations-Vorgang benötigten Energie. In: Löffler G, Petrides PE. *Biochemie und Pathobiochemie.* 6. Auflage, Springer, Berlin 1998; 959-960
79. Rango M, Castelli A, Scarlato G. Energetics of 3.5 s neural activation in humans: a  $^{31}\text{P}$  MR spectroscopy study. *Magn Reson Med.* 1997; 38: 878-883
80. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988; 37: 1595-1607
81. Richter WO, von Eckardstein A. Folgen der Überernährung. In: Siegenthaler W, Blum HE. *Klinische Pathophysiologie.* 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2006; 200-205

82. Rosmond R, Dallman MF, Bjorntorp P. Stress-related cortisol secretion in men: relationships with abdominal obesity and endocrine, metabolic and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998; 83: 1853-1859
83. Rothman DL, Shulman RG, Shulman GI. <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance measurements of muscle glucose-6-phosphate. Evidence for reduced insulin-dependent muscle glucose transport or phosphorylation activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 1992; 89: 1069-1075
84. Satake S, Kuzuya M, Miura H, Asai T, Ramos MA, Muraguchi M, Ohmoto Y, Iguchi A. Up-regulation of vascular endothelial growth factor in response to glucose deprivation. *Biol Cell.* 1998; 90: 161-168
85. Scheuermann-Freestone M, Madsen PL, Manners D, Blamire AM, Buckingham RE, Styles P, Radda GK, Neubauer S, Clarke K. Abnormal cardiac and skeletal muscle energy metabolism in patients with type 2 diabetes. *Circulation.* 2003; 107: 3040-3046
86. Schwartz MW, Porte D Jr. Diabetes, obesity, and the brain. *Science.* 2005; 307: 375-379
87. Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC, Weigle DS, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes.* 1997; 46: 2119-2123
88. Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000; 404: 661-671
89. Seematter G, Guenat E, Schneiter P, Cayeux C, Jequier E, Tappy L. Effects of mental stress on insulin-mediated glucose metabolism and energy expenditure in lean and obese women. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 279: E799-E805
90. Seidner G, Alvarez MG, Yeh JI, O'Driscoll KR, Klepper J, Stump TS, Wang D, Spinner NB, Birnbaum MJ, De Vivo DC. GLUT-1 deficiency syndrome caused by haploinsufficiency of the blood-brain barrier hexose carrier. *Nat Genet.* 1998; 18: 188-191

91. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983; 219: 983-985
92. Shamon H, Friedman S, Canton C, Zacharowicz L, Hu M, Rossetti L. Increased epinephrine and skeletal muscle responses to hypoglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1994; 93: 2562-2571
93. Shepherd PR, Kahn BB. Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1999; 341: 248-257
94. Shulman GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA, Shulman RG. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *N Engl J Med*. 1990; 322: 223-228
95. Shweiki D, Neeman M, Itin A, Keshet E. Induction of vascular endothelial growth factor expression by hypoxia and by glucose deficiency in multicell spheroids: implications for tumor angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995; 92: 768-772
96. Silver IA, Erecinska M. Extracellular glucose concentration in mammalian brain: continuous monitoring of changes during increased neuronal activity and upon limitation in oxygen supply in normo-, hypo-, and hyperglycemic animals. *J Neurosci*. 1994; 14: 5068-5076
97. Simpson IA, Appel NM, Hokari M, Oki J, Holman GD, Maher F, Koehler-Stec EM, Vannucci SJ, Smith QR. Blood-brain barrier glucose transporter: effects of hypo- and hyperglycemia revisited. *J Neurochem*. 1999; 72: 238-247
98. Smith CD, Ain KB. Brain metabolism in hypothyroidism studied with <sup>31</sup>P magnetic-resonance spectroscopy. *Lancet*. 1995; 345: 619-620

99. Solano MP, Kumar M, Fernandez B, Jones L, Goldberg RB. The pituitary response to ovine corticotropin-releasing hormone is enhanced in obese men and correlates with insulin resistance. *Horm Metab Res.* 2001; 33: 39-43
100. Sone H, Deo BK, Kumagai AK. Enhancement of glucose transport by vascular endothelial growth factor in retinal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000; 41: 1876-1884
101. Sone H, Kawakami Y, Okuda Y, Kondo S, Hanatani M, Suzuki H, Yamashita K. Vascular endothelial growth factor is induced by long-term high glucose concentration and up-regulated by acute glucose deprivation in cultured bovine retinal pigmented epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996; 221: 193-198
102. Stanley BG, Ha LH, Spears LC, Dee MG 2nd. Lateral hypothalamic injections of glutamate, kainic acid, D,L-alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-isoxazole propionic acid or N-methyl-D-aspartic acid rapidly elicit intense transient eating in rats. *Brain Res.* 1993; 613: 88-95
103. Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, Leibowitz SF. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides.* 1986; 7: 1189-1192
104. Stanley BG, Willett VL 3rd, Donias HW, Ha LH, Spears LC. The lateral hypothalamus: a primary site mediating excitatory amino acid-elicited eating. *Brain Res.* 1993; 630: 41-49
105. Stein I, Neeman M, Shweiki D, Itin A, Keshet E. Stabilization of vascular endothelial growth factor mRNA by hypoxia and hypoglycemia and coregulation with other ischemia-induced genes. *Mol Cell Biol.* 1995; 15: 5363-5368
106. Taegtmeier H, McNulty P, Young ME. Adaptation and maladaptation of the heart in diabetes: Part I: general concepts. *Circulation.* 2002; 105: 1727-1733

107. Thiebaud D, Jacot E, DeFronzo RA, Maeder E, Jequier E, Felber JP. The effect of graded doses of insulin on total glucose uptake, glucose oxidation, and glucose storage in man. *Diabetes*. 1982; 31: 957-963
108. Tonello C, Giordano A, Cozzi V, Cinti S, Stock MJ, Carruba MO, Nisoli E. Role of sympathetic activity in controlling the expression of vascular endothelial growth factor in brown fat cells of lean and genetically obese rats. *FEBS Lett*. 1999; 442: 167-172
109. Tracey I, Scott RB, Thompson CH, Dunn JF, Barnes PR, Styles P, Kemp GJ, Rae CD, Pike M, Radda GK. Brain abnormalities in Duchenne muscular dystrophy: phosphorus-31 magnetic resonance spectroscopy and neuropsychological study. *Lancet*. 1995; 345: 1260-1264
110. van den Hoek AM, Voshol PJ, Karnekamp BN, Buijs RM, Romijn JA, Havekes LM, Pijl H. Intracerebroventricular neuropeptide Y infusion precludes inhibition of glucose and VLDL production by insulin. *Diabetes*. 2004; 53: 2529-2534
111. Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J Magn Reson*. 1997; 129: 35-43
112. Vannucci SJ, Gibbs EM, Simpson IA. Glucose utilization and glucose transporter proteins GLUT-1 and GLUT-3 in brains of diabetic (db/db) mice. *Am J Physiol*. 1997; 272: E267-E274
113. Vannucci SJ, Maher F, Simpson IA. Glucose transporter proteins in brain: delivery of glucose to neurons and glia. *Glia*. 1997; 21: 2-21
114. Veneman T, Mitrakou A, Mokan M, Cryer P, Gerich J. Effect of hyperketonemia and hyperlacticacidemia on symptoms, cognitive dysfunction, and counterregulatory hormone responses during hypoglycemia in normal humans. *Diabetes*. 1994; 43: 1311-1317

115. Voigt K. Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-System: Mineralo- und Glucocorticoide regeln vitale Funktionen. In: Klinke R, Silbernagl S. Lehrbuch der Physiologie. 2. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 2000; 460-469
116. Waldhausl WK, Gasic S, Bratusch-Marrain P, Komjati M, Korn A. Effect of stress hormones on splanchnic substrate and insulin disposal after glucose ingestion in healthy humans. *Diabetes*. 1987; 36: 127-135
117. Wang W, Merrill MJ, Borchardt RT. Vascular endothelial growth factor affects permeability of brain microvessel endothelial cells in vitro. *Am J Physiol*. 1996; 271: C1973-C1980
118. Williams B, Gallacher B, Patel H, Orme C. Glucose-induced protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. *Diabetes*. 1997; 46: 1497-1503
119. Williams GH, Dluhy RG. DISEASES OF THE ADRENAL CORTEX. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL. Harrison`s PRINCIPLES of INTERNAL MEDICINE. 14<sup>TH</sup> EDITION, The McGraw-Hill Companies, USA 1998; 2035-2057
120. Williamson JR, Chang K, Frangos M, Hasan KS, Ido Y, Kawamura T, Nyengaard JR, van den Enden M, Kilo C, Tilton RG. Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes*. 1993; 42: 801-813
121. Yang XJ, Kow LM, Funabashi T, Mobbs CV. Hypothalamic glucose sensor: similarities to and differences from pancreatic beta-cell mechanisms. *Diabetes*. 1999; 48: 1763-1772

## 7 Anhang

### 7.1 Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotrophes Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AgRP	Agouti-Related Peptide
AMARES	Advanced Method for Accurate, Robust and Efficient Spectral fitting
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenosintriphosphat
BHS	Bluthirnschranke
BMI	Body-Mass-Index
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
EDTA	Ethylenediaminetetraacetat
ELISA	Enzyme-Linked Immunsorbent Assay
FC	Follicular Cells
FFA	Free Fatty Acids (Freie Fettsäuren)
GABA	$\gamma$ -Amino-Butyric Acid
GLUT	Glukosetransporter
HHN-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
K <sup>+</sup>	Kalium
KHK	Koronare Herzkrankheit
mRNA	messenger - Ribonucleic Acid
MRUI	Magnetic Resonance User Interface

MSH	Melanozytenstimulierendes Hormon
NaCl	Natriumchlorid
NADH <sup>+</sup> /NAD <sup>+</sup>	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid
NO	Stickstoffmonoxid
NPY	Neuropeptid Y
NTP	Nucleoside Triphosphate
PCr	Phosphokreatin
PDE	Phosphodiester
Pi	Anorganisches Phosphat
POMC	Proopiomelanocortin
PME	Phosphormonoester
<sup>31</sup> P-MR-Spektroskopie	<sup>31</sup> Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie
SPSS	Superior Performance Software Systems
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor = VPF
VK	Variationskoeffizient
VPF	Vascular Permeability Factor = VEGF
ZNS	Zentrales Nervensystem

## **7.2 Bewilligung durch die Ethikkommission**

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck am 31.07.2002 bewilligt (Aktenzeichen 02-068).

## 7.3 Probandenaufklärung

### **Aufklärungsbogen „Vergleich von zerebralem und peripherem Glukosemetabolismus bei Stress“**

#### Hintergrund der Studie:

In den letzten Jahrzehnten hat aufgrund eines ständig wachsenden Lebensstandards in den Industrieländern die sog. „Wohlstandskrankheit“ oder auch das „Metabolische Syndrom“ stetig zugenommen. Die Grundlage dieser Erkrankung ist das Übergewicht mit den Folgen Bluthochdruck, Fettstoffwechselstörung oder sogar Altersdiabetes. Wir haben in einer Studie nachgewiesen, dass diese Patienten eine vermehrte Produktion des Stresshormons Cortisol im Blut haben. Die Ursache ist wahrscheinlich eine veränderte Stressantwort des Körpers, die sich vor allem auf die Versorgung des Gehirns mit Zucker aus dem Blut auswirkt. Daher haben diese Patienten zwar einen verstärkten Appetit, der Organismus dagegen verhält sich wie in einer Hungerphase: er speichert möglichst viel Energie im Fettgewebe ein. Aus diesem Grund möchten wir nach dem Auslösen von körperlichem Stress den Zuckerstoffwechsel im Gehirn mit dem in der Muskulatur vergleichen.

#### Ziel der Studie:

In der hier beschriebenen Studie soll die Auswirkung von unterschiedlichem Stress auf den Zuckerstoffwechsel im Gehirn mit dem im Muskel verglichen werden. Dazu machen wir jeweils eine Schichtaufnahme (Magnetresonanztomographie) vor und während der Auslösung von Stress. Diese Untersuchung ist nicht mit radioaktiver Strahlung verbunden. Der Stress wird jeweils ausgelöst durch eine Unter- bzw. Überzuckerung. Es wird pro Versuchstag nur eine Stressart angewandt.

#### Studienablauf:

Sie nehmen an 3 Terminen im Abstand von mindestens 4 Wochen teil und durchlaufen in zufälliger Reihenfolge jeweils folgende Versuche:

- a) Unterzuckerung
- b) Überzuckerung

Die Untersuchungen beginnen morgens um 8.00 Uhr in der Klinik. Sie finden in einem schallgedämpften Raum im Institut für Radiologie statt. Die Probanden nehmen gerade ausgestreckt auf dem Untersuchungstisch des Magnetresonanztomographen Platz. Dann wird ein Venenkatheter (Braunüle) in der Rückenvene einer Hand platziert und ein zweiter in einer Vene des anderen Armes. An beide Braunülen werden nun lange dünne Schläuche angeschlossen, die Blutabnahmen sowie die Anpassung der Zucker-(Dextrose)-Infusion außerhalb ihres Gesichtsfeldes ermöglichen. Es werden die Ausgangskonzentrationen von verschiedenen Hormonen bestimmt. Anschließend wird eine Ausgangsuntersuchung im Magnetresonanztomographen als Kontrolle erstellt. Nun erhalten Sie eine einmalige Gabe von Insulin (0,1 IU/kg) über die Vene bzw. eine Zucker-(Dextrose)-Infusion. Bei der Unterzuckerung wird am tiefsten Punkt der Zuckerwerte mit einer

20%igen Dextroselösung die Blutzuckerkonzentration wieder angehoben. Der Blutzucker wird alle 5 Minuten gemessen. Bei Erreichen der gewünschten Blutzuckerkonzentration bzw. direkt nach der Ergometrie wird eine zweite Untersuchung im Magnetresonanz (MR)-Tomographen erstellt.

Während der Untersuchungen werden Blutproben zur Messung von verschiedenen Hormonen entnommen. Die MR-Spektroskopie mit einem Querschnitt zunächst durch das Gehirn und dann durch den Unterarmmuskel durchgeführt. Insgesamt werden Ihnen ca. 220 ml Blut abgenommen (halb so viel wie bei einer Blutspende).

#### Risiken:

Es besteht das Risiko einer lokalen Entzündungsreaktion im Bereich der venösen Zugänge (Braunülen). Bei der relativ kurzen Liegedauer dieser Zugänge ist das Risiko einer lokalen Entzündungsreaktion jedoch gering. Die Über- bzw. Unterzuckerungen gehen erfahrungsgemäß nicht mit gesundheitlichen Risiken einher. Unter der Unterzuckerung kann es zu Symptomen wie z.B. Schwitzen, Zittern oder Hungergefühl kommen. Bezüglich der MR-Spektroskopie-Untersuchung wird der Empfehlung der Strahlenschutzkommission "Empfehlung zur Vermeidung gesundheitlicher Risiken bei Anwendung magnetischer Resonanzverfahren in der medizinischen Diagnostik" von 1997 entsprochen: Da zwar keine Risiken (keine Strahlenbelastung) bei diesem Untersuchungsverfahren bekannt sind, diese aber auch nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden können, wird für die Untersuchungen die Anwesenheit eines sachkundigen Arztes oder Physikers mit einschlägigen Kenntnissen gefordert sowie ein ständiger optischer und akustischer Kontakt zwischen Arzt und Proband. Beides ist in der Studie gegeben.

#### Voraussetzungen:

Sie sollten in der Zeit 4 Wochen vor und während der Versuche nicht an anderen Studien teilnehmen, kein Blut spenden, keine Diät beginnen, wenigstens eine Woche vor dem Versuchstag einen normalen Tag-Nacht-Rhythmus einhalten und keiner erschöpfenden körperlichen Tätigkeit nachgehen. Den Abend vor dem Versuchstag sollten sie nicht später als 23.00 Uhr zu Bett gehen. Am Versuchstag selber sollten sie sich gesund fühlen und nüchtern sein.

Sie können jederzeit von der Studie zurücktreten, auch ohne Angabe von Gründen. Im Falle einer Schädigung haftet das Klinikum der MUL nach den allgemeinen Haftungsgrundsätzen des Universitätsklinikums (UKL).

Proband

Studienarzt

## 8 Danksagungen

An erster Stelle möchte ich meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Kerstin Oltmanns danken. Sie hat mir nicht nur ein Thema zur Verfügung gestellt, sondern diese Arbeit zudem durch ihre Ideen, ihre Geduld und Erfahrung unterstützt. Für meine Fragen hatte sie stets ein offenes Ohr; Sie hat mir wertvolle Anregungen und fundierte Empfehlungen gegeben. Ohne ihre beständige Unterstützung und ihre konstruktive Kritik wäre meine Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Dem Institut für Neuroradiologie und der Medizinischen Klinik I danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Materialien.

Großen Dank schulde ich vor allem den Physikern Herrn Dr. rer. nat. Uwe H. Melchert und Herrn Dipl. Phys. Harald G. Scholand-Engler aus dem Institut für Neuroradiologie für die Messung und Auswertung der in unseren Versuchen zu ermittelnden Spektren, für die Unterstützung während der Studie und für die Hilfe bei der Literatursuche. Christiane Otten möchte ich für ihre fachkundige und tatkräftige Unterstützung im Labor danken. Weiterhin danke ich den freiwilligen Probanden, ohne die keine Forschungsarbeit möglich gewesen wäre.

Ein besonderes Dankeswort gilt Cordula Günther für ihre unverzichtbare Unterstützung während der Studie und der Verfassung dieser Arbeit. Tobias Hercher danke ich für die umfangreiche Hilfe bei der EDV. Weiterhin möchte ich Nicole Lingelbach und Jan Christian Klinkenstein für die Hilfe bei der Gestaltung danken. Ganz herzlich bedanke ich mich bei Astrid Ashoff und vor allem bei Jens Trautmann für die moralische Unterstützung, die wirklich unbezahlbar war!

Weiterhin bedanke ich mich bei meinen Großvätern, die leider beide nicht mehr leben; Bei Heinz Davidsohn für die ständige Unterstützung während meines Studiums und bei Rudolf Howitz für den wunderschönen Schreibtisch, den er für mich vor 13 Jahren zimmerte, „damit ich später einmal meine Doktorarbeit daran schreiben kann“. Ich habe mich an mein Versprechen gehalten.

Als letztes danke ich meiner Mutter Petra Howitz dafür, dass sie mich immer in meinem Lebensweg unterstützt und an mich geglaubt hat. Sie hat mich stets motiviert, meine beruflichen und privaten Ziele zu verfolgen. Leider konnte sie mein Studium nicht mehr miterleben. Ihr möchte ich meine Doktorarbeit widmen.

## 9 Lebenslauf

### Persönliche Daten:

Name: Maria Howitz  
Anschrift: Brömbenstr. 10  
23560 Lübeck  
Geboren am: 05. September 1979 in Bochum  
Familienstand: ledig



### Schulbildung:

1990-1999 Marienschule, Gymnasium, Hildesheim (Abitur)  
1986-1990 Grundschule Hildesheim

### Studium:

Okt. 1999 - Nov 2006 Universität zu Lübeck, Studium der Humanmedizin  
Nov. 2006 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Sept. 2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Aug. 2002 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Sept. 2001 Ärztliche Vorprüfung

### Praktisches Jahr

20.06.-07.10.2005 Klinik für Innere Medizin, Sana Kliniken Lübeck GmbH, Krankenhaus Süd  
21.02.-10.06.2005 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Lübeck  
18.10.04.-04.02.2005 Klinik für Chirurgie/Notaufnahme, Instituto José Frota, Fortaleza, Brasilien

#### Famulaturen:

- 01.09.-22.09.2003 Klinik für Anästhesiologie, Universitätsklinikum Lübeck
- 01.08.-30.08.2003 Medizinische Klinik I, Bereich Endokrinologie,  
Universitätsklinikum Lübeck
- 24.02.-30.03.2003 Urologie, spezielle urologische Chirurgie,  
Praxisfamulatur, Sana Kliniken Lübeck GmbH, Krankenhaus Süd
- 18.03.-31.03.2002 H.N.O., Praxisfamulatur
- 18.02.-17.03.2002 Innere Medizin, Kardiologie, Universitätsklinikum Lübeck

#### Weitere Tätigkeiten

- seit Okt. 2003 Doktorarbeit in der Neuroendokrinologie, Thema „Effekte einer akuten Hyperglykämie auf den Hochenergiemetabolismus in Gehirn und Muskulatur beim Menschen“. Die Fertigstellung ist für Ende 2006 geplant.
- 2000-2003 Arbeit als studentische Extrawache des Deutschen Roten Kreuzes im Universitätsklinikum Lübeck

#### Fertigkeiten:

- EDV-Kenntnisse: Microsoft Word, Excel, Power Point  
Adobe Photoshop
- Sprachen: Englisch  
Portugiesisch  
Latein (Großes Latinum)