

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Lehnert

Interaktion von Laktat
mit zentralen Glukosesensoren und β -Zellen des Pankreas

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Janne-Riborg Johnsen
aus Kiel

Lübeck 2011

1. Berichtstatter: Prof. Dr. med. Bernd Schultes

2. Berichtstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Frank Noack

Tag der mündlichen Prüfung: 05.03.2012

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 05.03.2012

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
Sonderzeichen	7
1. Einleitung	8
1.1 Diabetes mellitus	8
1.1.1 Definition, Prävalenz, Einteilung und Therapie des Diabetes mellitus	8
1.1.2 Hypoglykämie und Hypoglykämiesymptome	10
1.1.3 Regulation des Blutglukosespiegels und physiologische Hypoglykämie Gegenregulation	10
1.1.4 Gestörte Hypoglykämie-Gegenregulation und eingeschränkte Wahrnehmung von hypoglykämischen Symptomen	13
1.2 Laktat	14
1.2.1 Grundzüge des Laktatstoffwechsels	14
1.2.2 Pathologisch erhöhte Laktatwerte und Laktatazidose	15
1.2.3 Laktat als alternatives Energiesubstrat für Neurone	16
1.2.4 Wirkung von Laktat auf die hypoglykämische neuroendokrine Gegenregulation und Hypoglykämie-Symptome	17
1.3 Zentrale Glukosesensoren	19
1.3.1 Besonderheiten, Verteilung und Funktion der Glukosesensoren	19
1.3.2 Funktionsmechanismen in der glukoseabhängigen Regulation von Aktivität und Transmitterfreisetzung	21
1.3.3 Interaktion zwischen Laktat und Glukosesensoren	24
1.3.4 Glukosesensoren sind metabolische Sensoren	25
1.3.5 Rolle der Glukosesensoren in der Regulation von physiologischen Funktionen	25
1.3.6 Die Veränderung der Glukosemessung im Krankheitsfall	26
1.4 Pankreatische β -zelluläre Glukosesensoren	27
1.4.1 Funktionsmechanismen der Glukosemessung und Insulinsekretion	27
1.4.2 Veränderungen der β -Zellfunktion im Krankheitsfall	28
1.4.3 Ähnlichkeiten zwischen zentralnervösen und β -zellulären Glukosesensoren	29

1.5	Fragestellung und Ziele	30
2.	Methoden	31
2.1	Probanden	31
2.2	Studiendesign	32
2.3	Versuchsablauf	32
2.4	Blutzucker und Hormonbestimmungen, Labormethoden	35
2.5	Statistische Auswertung	35
3.	Ergebnisse	36
3.1	Blutglukose	36
3.2	Laktat	37
3.3	Glukoseinfusionsraten	37
3.4	C-Peptid	38
3.5	Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation	39
3.5.1	Adrenalin	40
3.5.2	Somatotropin	41
3.5.3	Kortisol	42
3.5.4	Glukagon	43
3.5.5	Noradrenalin	43
4.	Diskussion	45
4.1	Allgemeines	45
4.2	Einfluss von Laktat auf zentralnervöse Glukosesensoren unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen	45
4.3	Einfluss von Laktat auf zentralnervöse Glukosesensoren unter euglykämischen Versuchsbedingungen	47
4.4	Einfluss von Laktat auf die β -Zellen unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen	48
4.5	Einfluss von Laktat auf die β -Zellen unter euglykämischen Versuchsbedingungen	49
4.6	Methodische Einschränkungen	51
4.7	Ausblick	51

5.	Zusammenfassung	52
6.	Literaturverzeichnis	53
7.	Anhang	67
7.1	Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	67
7.2	Ethikantrag	68
8.	Danksagung	69
9.	Curriculum Vitae	69

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	adrenokortikotropes Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
AMPK	Adenosinmonophosphat - aktivierte Proteinkinase
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
C-Peptid	Connective-Peptid
<i>g</i>	Erdschwerebeschleunigung
<i>g</i>	Gramm
EIHI	Exercise-induced hyperinsulinism
GLUT	Glukosetransporter
IU	Einheiten (international)
K _{ATP} -Kanal	ATP-sensitiver Kaliumkanal
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
K _m	Michaeliskonstante
l	Liter
LDH	Laktatdehydrogenase
MCT	Monocarboxylase-Transporter
mIU	Milli-Einheiten (international)
MODY	Maturity onset diabetes of the young
mol	Mol
mmol	Milli-Mol
μmol	Mikro-Mol
NADH/NAD ⁺	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid
nmol	Nano-Mol
NPY	Neuropeptid Y
pmol	Piko-Mol
POMC	Proopiomelanocortin

t	Zeit
VK	Variationskoeffizient
ZNS	Zentrales Nervensystem

Sonderzeichen

	alpha
β	beta
	gamma
<	kleiner
>	größer
	kleiner/ kleiner gleich
$^{\circ}$	Grad
x	mal
\pm	plus/ minus

1. Einleitung

Glukose ist die wichtigste Energiequelle des zentralen Nervensystems (ZNS) (Peters et al., 2004, Schmid et al., 2008). Das Gehirn produziert selbst keine Glukose, hat nur minimale Speicherkapazität für Glykogen und ist zur Wahrung der funktionalen Integrität deshalb auf kontinuierliche Zufuhr von Glukose aus dem Blutkreislauf angewiesen. Es hat sich jedoch gezeigt, dass auch andere Substrate im Energiemetabolismus des Gehirns eine wichtige Rolle spielen und dass neben Glukose auch Laktat als ein alternativer Energieträger für Neurone wirkt (Pellerin und Magistretti, 1994, Magistretti et al., 1999, Smith et al., 2003, Kasischke et al., 2004, Pellerin und Magistretti, 2004, Bergensen, 2007). Laktat interagiert außerdem mit zentralen Glukosesensoren, welche eine entscheidende Funktion in der Regulation der Energie- und Glukosehomöostase ausüben (Borg et al., 1995, Borg et al., 1997, Levin et al., 2004, Schmid et al., 2008).

1.1 Diabetes mellitus

1.1.1 Definition, Prävalenz, Einteilung und Therapie des Diabetes mellitus

Bei der Erkrankung des Diabetes mellitus liegt eine tiefgreifende Regulationsstörung des Glukosestoffwechsels mit dem Leitbefund der chronischen Hyperglykämie vor. Ursächlich dafür ist entweder eine gestörte Insulinsekretion oder eine verminderte Insulinwirkung oder auch beides (Kerner et al., 2004). Der Diabetes mellitus ist eine Erkrankung mit steigender Prävalenz. Im Jahr 2000 waren weltweit 171 Millionen Menschen am Diabetes mellitus erkrankt und es wird geschätzt, dass sich diese Zahl bis zum Jahr 2030 auf 366 Millionen Erkrankte mehr als verdoppelt haben wird (Wild et al., 2004).

Die Einteilung des Diabetes mellitus orientiert sich an der Ätiologie der verschiedenen Diabetesformen (nach der American Diabetes Association): Beim Diabetes mellitus Typ 1 kommt es zu einer autoimmunen β -Zellzerstörung, die gewöhnlich zum absoluten Insulinmangel führt. Der Diabetes mellitus Typ 2 (etwa 90% aller Diabetes-Erkrankungen) ist eng mit dem metabolischen Syndrom assoziiert (androide Adipositas, Dyslipoproteinämie, Hypertonus und gestörte Glukosetoleranz bzw. Diabetes mellitus Typ 2) (Hillier et al., 2001).

Vorherrschend ist hier die verminderte Insulinsensitivität und damit ein relativer Insulinmangel bei anfänglicher Hyperinsulinämie, später häufig mit begleitender Insulinsekretionsstörung (Miyazaki et al., 2002). Die Assoziation der Adipositas zum Diabetes mellitus Typ 2 ist besonders stark (Lazar, 2005). Bei bestehender Glukosetoleranzstörung ist es durch eine Reduktion der Körpermasse möglich, das Risiko erheblich zu senken, am manifesten Diabetes mellitus zu erkranken. (Tuomilehto et al., 2001). Bei bestehendem Diabetes mellitus kann durch eine Gewichtsreduktion die Insulinsensitivität verbessert werden (Houmard et al., 2002). Eine weitere Form des Diabetes mellitus ist der Gestationsdiabetes, eine Glukosetoleranzstörung, die erstmals in der Schwangerschaft auftritt und bei der in etwa 30 % der Fälle ein manifester Diabetes mellitus bestehen bleibt. Andere seltenere Formen des Diabetes mellitus umfasst die Klasse des als MODY (maturity onset diabetes of the young) bezeichneten Diabetes, dem genetische Defekte der β -Zellfunktion zugrunde liegen. Beim MODY-2 z.B. liegt ein Glukokinasedefekt vor (Mutation des Glukokinase-Gens auf Chromosom 7), wodurch es zu einer reduzierten Insulinantwort auf einen Glukosereiz kommt (Velho et al., 1997, Chèvre et al., 1998). Sehr selten sind auch genetische Defekte der Insulinwirkung die Ursache für einen Diabetes mellitus. Erkrankungen des exokrinen Pankreas mit nachfolgender endokriner Insuffizienz oder auch endokrine Erkrankungen mit vermehrt insulinantagonistisch wirkenden Hormonen sowie auch die Einnahme bestimmter Medikamente (z.B. Glukokortikoide) können ebenfalls zum Diabetes mellitus führen.

Ziel der Therapie des Diabetes mellitus ist neben der Behandlung von Begleiterkrankungen die möglichst normoglykämische Langzeit-Blutzuckereinstellung. Die Langzeit-Blutzuckereinstellung bestimmt maßgeblich die Entwicklung und das Fortschreiten von diabetischen mikroangiopathischen Folgeerkrankungen wie der Nephropathie, der Retinopathie und der diabetischen Neuropathie (DCCT Research Group, 1993, UKPDS Group, 1998). Weniger eindeutig ist der positive Effekt einer strengen Langzeit-Blutzuckerkontrolle auf die Entwicklung der makroangiopathischen Folgeerkrankungen wie der Koronaren Herzkrankheit, der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit und der zerebralen Durchblutungsstörungen (ACCORD Study Group 2008, ADVANCE Collaborative Group 2008). Eine strenge Blutzuckereinstellung ist mit einer erhöhten Inzidenz von Hypoglykämien, der häufigsten und gefährlichsten Komplikation in der Diabetestherapie, assoziiert (DCCT Research Group, 1993, ACCORD Study Group 2008).

1.1.2 Hypoglykämie und Hypoglykämiesymptome

Von einer Hypoglykämie wird ab einer Blutglukosekonzentration unter 40 mg/dl ($< 2,2$ mmol/l) gesprochen. Besonders für diabetische Patienten, bei denen der Blutzuckerspiegel, der Hypoglykämiesymptome auslöst, größeren Variationen unterliegt, ist die Definition der Hypoglykämie anhand der Whipple-Trias besser geeignet. Dazu zählen ein Blutzucker unter 50 mg/dl ($< 2,8$ mmol/l), hypoglykämische Symptome und die Besserung durch adäquate Behandlung. Bei den Hypoglykämiesymptomen unterscheidet man neuroglykopenen Symptome, erklärt durch die Minderversorgung des zentralen Nervensystems, von autonomen Symptomen, erklärt durch die Aktivierung des sympathischen und auch parasympathischen Nervensystems. Zu den neuroglykopenen Symptomen zählen Schwindel, verschwommenes Sehen, verminderte Konzentrationsfähigkeit, Schwächegefühl, Missempfindungen an der Haut und in schweren Fällen Bewußtlosigkeit und Krampfanfälle. Zu den autonomen Symptomen gehören Angst, Hunger, erhöhte Herzfrequenz, Schwitzen, Nervosität und Zittern (Veneman et al., 1993).

1.1.3 Regulation des Blutglukosespiegels und physiologische Hypoglykämie-Gegenregulation

Da das Gehirn seinen Energiebedarf fast ausschließlich aus der Metabolisation von Glukose deckt, ist es für den Organismus außerordentlich wichtig, einen normoglykämischen Zustand beizubehalten. Hypoglykämische Zustände führen schon nach kurzer Zeit zu beeinträchtigten Funktionen des zentralen Nervensystems (Strachan et al., 2001). Nach Beginn einer Hypoglykämie kommt es schnell zu kognitiven Dysfunktionen (Fruehwald-Schultes et al., 2000 a) noch bevor hypoglykämische Symptome wahrgenommen werden (Evans et al., 2000). Sehr niedrige Glukosekonzentrationen führen zu Krampfanfällen und möglicherweise lebensbedrohlicher Bewusstlosigkeit (Gerich et al., 1991). Der Organismus ist also bestrebt Hypoglykämien sowie auch die negativen Folgen von erhöhten Glukosekonzentrationen zu vermeiden. Unter physiologischen Bedingungen wird deshalb die Glukosekonzentration in einem relativ engen Bereich reguliert. Durch ein hormonelles Regelwerk mit dem Insulin als wichtigstem blutzuckersenkendem Hormon und mehreren kontrainsulinären, blutzuckersteigernden Hormonen wird das schwankende Glukoseangebot dem schwankenden Glukosebedarf angepasst und der Blutzuckerspiegel im Bereich von 80 ± 20 mg/dl ($4,5 \pm 1$

mmol/l) gehalten. gebildet. Das in in den β -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas gebildete Insulin besteht aus zwei Peptidketten, die durch zwei Disulfidbrücken miteinander verknüpft sind. Im Verlauf der Insulinsynthese wird von einem Vorgängerprotein, dem Proinsulin, das sogenannte connective peptide (C-Peptid) abgespalten. Das C-Peptid liegt äquimolar zum biologisch aktiven Insulin vor und ermöglicht es, durch seine Messung die endogene Insulinproduktion zu bestimmen. Die blutzuckersenkenden Wirkungen des Insulins, dessen zweiphasige Sekretion durch einen Glukosereiz ausgelöst wird (Hedeskov, 1980, Rorsman et al., 2000), werden über Insulinrezeptoren vermittelt. Durch die Aktivierung des insulinabhängigen Glukosetransporters GLUT 4 wird der Transport von Glukose in Muskel- und Fettzellen erhöht. Insulin steigert die anabolen Stoffwechselfvorgänge (Glykogen-, Lipid- und Proteinsynthese) und hemmt die katabolen Stoffwechselwege (Glykogenolyse, Lipolyse, Proteolyse und Glukoneogenese).

Dem Insulin stehen mehrere blutzuckersteigernde, kontrainsulinäre Hormone gegenüber. Der ventromediale Hypothalamus übernimmt dabei eine entscheidende Funktion in der Steuerung der Hypoglykämie-Gegenregulation (Borg et al., 1995, Borg et al., 1997). Bei der Hypoglykämie-Gegenregulation lässt sich eine exogene von einer endogenen Reaktion unterscheiden (Peters et al., 2004). Die exogene Reaktion beinhaltet die Nahrungsaufnahme (Schultes et al., 2003), auf welche sich die kognitiven Ressourcen richten (Schultes et al., 2005 b). Die endogene Antwort umfasst das hormonelle Regelwerk zur Blutzuckersteigerung durch Reduktion der Insulinausschüttung und Steigerung der kontrainsulinären Hormonsekretion. Von den kontrainsulinären Hormonen spielt das von den α -Zellen des Pankreas sezernierte Glukagon die Hauptrolle (Schwartz et al., 1987, Mitrakou et al., 1991, Cryer, 1993). Glukagon, dessen Sekretion durch niedrige Glukosespiegel stimuliert wird, wirkt hauptsächlich in der Leber und führt durch Steigerung der Glykogenolyse, Proteolyse und Glukoneogenese zur Erhöhung des Blutzuckerspiegels. Niedrige Glukosespiegel führen zur Aktivierung des sympathischen Nervensystems und Katecholaminausschüttung durch Stimulation des Nebennierenmarkes (Paramore et al., 1999). Die blutzuckersteigernden Wirkungen von Adrenalin und Noradrenalin liegen in einer Steigerung der Glykogenolyse in Leber- und Muskelzellen und vermehrter Glukoneogenese in der Leber. Die Katecholamine hemmen außerdem die Insulinsekretion und stimulieren die Glukagonsekretion. Durch Stimulation der Lipolyse und Proteolyse kommt es zur Mobilisation von energiereichen

Substraten. Besonders wichtig für eine funktionierende Gegenregulation wird die Rolle der Katecholamine, wenn die Glukagon-Antwort defekt ist (Gerich et al., 1980, Popp et al., 1982). Solch eine verminderte Glukagon-Ausschüttung in der Hypoglykämie-Gegenregulation zeigt sich bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (Bolli et al., 1983) und bei Patienten mit fortgeschrittenem Diabetes mellitus Typ 2 (Segel et al., 2002). Das aus dem Hypophysenvorderlappen ausgeschüttete Somatotropin (Wachstumshormon) wirkt am Fettgewebe lipolytisch, steigert die Glukoneogenese in der Leber, stimuliert die Glukagon-Sekretion und setzt die periphere Insulinsensitivität herab. Bei protrahierter Hypoglykämie kommt es zur ACTH (adrenokortikotropes Hormon)-Sekretion und daraus folgender Kortisol-Ausschüttung aus den Nebennierenrinden (Cryer et al., 2003). Kortisol fördert die Glukoneogenese in der Leber und der Niere und steigert die Lipolyse im Fettgewebe. Auch die gehemmte Glukoseutilisation in der Muskulatur führt zum Blutzuckeranstieg. Physiologischerweise ist die Aktivierung der einzelnen Gegenregulationsmechanismen im Verlauf eines abfallenden Blutglukosespiegels hierarchisch gegliedert (Mitrakou et al., 1991). Es gibt für das Einsetzen der jeweiligen Komponente entsprechende Schwellenwerte der abfallenden Blutglukosekonzentration, bei der sie aktiviert werden bzw. auftreten.

Komponente	Schwellenwert der Plasmaglukose
Glukagon	68 ± 1 mg/dl
Adrenalin	68 ± 1 mg/dl
Somatotropin	67 ± 2 mg/dl
Noradrenalin	65 ± 2 mg/dl
Autonome Symptome	58 ± 2 mg/dl
Kortisol	55 ± 2 mg/dl
Neuroglykopenische Symptome	51 ± 3 mg/dl
Kognitive Dysfunktion	49 ± 2 mg/dl

Tab. 1: *Schwellenwerte der Plasmaglukose, bei der entsprechende Hypoglykämie-Reaktionen auftreten (nach Mitrakou et al. 1991)*

1.1.4 Gestörte Hypoglykämie-Gegenregulation und eingeschränkte Wahrnehmung von hypoglykämischen Symptomen

Besonders nach längerer Erkrankungsdauer zeigt sich sowohl bei Typ 1 als auch bei Typ 2 Diabetikern eine gestörte hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulation (Amiel et al., 1987). Dieses Problem wird dadurch verschärft, dass viele Patienten zusätzlich nicht in der Lage sind, Hypoglykämie-Symptome richtig wahrzunehmen und zu deuten und dann entsprechend zu handeln (Gerich et al., 1991, Amiel, 2001). Die verminderte hormonelle Gegenregulation und gestörte Symptomwahrnehmung ist besonders ausgeprägt nach vorangegangenen Hypoglykämien (Dagogo-Jack et al., 1993, Fruehwald-Schultes et al., 1999, Schultes et al., 2005 a). Durch diese negativen Effekte vorausgegangener Hypoglykämien auf die Gegenregulation und Symptomwahrnehmung entwickelt sich ein Circulus vitiosus, wodurch es zu wiederholtem Auftreten von Hypoglykämien und mit weiteren entsprechend negativen Auswirkungen kommt (Cryer et al., 2003).

Zur Erklärung der gestörten Hypoglykämie-Gegenregulation werden verschiedene Ansätze diskutiert. Dabei ist die Hypothese, die Veränderungen im Kerngebiet des ventromedialen Hypothalamus betrachtet, dem Zentrum der Steuerung der Hypoglykämie-Gegenregulation, die geläufigste. Die Veränderungen der glukosemessenden Neurone im Hypothalamus (s.u., 1.3 Zentrale Glukosesensoren) stehen dabei im Mittelpunkt (Levin et al., 2004). Der Erklärungsansatz zu einer verminderten Hypoglykämie-Gegenregulation basiert darauf, dass die Glukokinase, welche eine entscheidende regulatorische Funktion bei der Glukosemessung einnimmt, im Sinne einer Anpassungsreaktion und induziert durch vorhergegangene Hypoglykämien, gesteigert exprimiert wird (Dunn-Meynell et al., 2002). Dadurch kommt es, entsprechend zu den extrazellulären Blutglukosekonzentrationen, zu relativ erhöhten intrazellulären ATP-Spiegeln (s.u.) und damit zu der Imitation von erhöhten Blutglukosekonzentrationen. Dies kann dann in der Folge durch eine Verschiebung der Reizschwelle zu einer Verminderung der Hypoglykämie-Gegenregulation führen (Levin et al., 2004).

1.2 Laktat

1.2.1 Grundzüge des Laktatstoffwechsels

Das im menschlichen Körper vorkommende Laktat wird vorwiegend in der Skelettmuskulatur gebildet. Laktat, das Anion der Milchsäure, ist das Endprodukt der anaeroben Glykolyse. Bei erhöhter Leistungsabforderung wird ein wachsender Anteil des in der Glykolyse entstandenen Pyruvats, das Endprodukt der aeroben Glykolyse, durch die Laktatdehydrogenase (LDH) zu Laktat umgesetzt. Die Bedeutung dieser Reaktion liegt darin, dass sie den glykolytischen Glukoseabbau auch in Abwesenheit von Sauerstoff ermöglicht. Die LDH ist das limitierende Enzym der Rate der Laktat-Verstoffwechslung (Bittar et al., 1996). Das NADH/NAD⁺ -Verhältnis ist dabei einer der bestimmenden Faktoren. Bei niedrigem NADH/NAD⁺ -Verhältnis wird Pyruvat durch den Pyruvatdehydrogenase-Komplex, welcher durch hohe NADH-Spiegel gehemmt wird, zu Acetyl-Coenzym A umgewandelt. Acetyl-Coenzym A wird im Zitratzyklus oxidativ abgebaut und über die Reaktionen der Atmungskette und die gekoppelte oxidative Phosphorylierung wird Energie in Form von ATP produziert. Bei hohem NADH/NAD⁺ -Verhältnis wird Pyruvat durch die LDH zu Laktat umgesetzt. Dies tritt ein, wenn hohe Glykolyseraten die Kapazität des Zitratzyklus übertreffen (Stryer, 1988). Um hohe Glykolyseraten aufrechterhalten zu können, ist diese Reaktion notwendig, da bei steigender Belastung nicht ausreichend anfallendes NADH in der Atmungskette zu NAD⁺ oxidiert werden kann. Bei der Reduktion von Pyruvat zu Laktat wird NADH als ein Cofaktor genutzt und damit NAD⁺ regeneriert. Das NAD⁺ wird wiederum in der Glykolyse von der Phosphoglycerinaldehyddehydrogenase gebraucht und somit der Ablauf der Glykolyse gesichert (Stryer, 1988). Die LDH steht damit an der Verbindungsstelle zwischen Glykolyse und Zitratzyklus (Bittar et al., 1996).

Es gibt fünf Isoenzyme der LDH, welche als eine Kombination von zwei verschiedenen Polypeptidketten erscheinen. Die LDH-5 (Muskel-Typ) hat eine hohe Umsatzgeschwindigkeit und bevorzugt die Umsetzung von Pyruvat zu Laktat. Sie findet sich vermehrt in glykolytisch aktiven Geweben mit kurzfristig hohen Glykolyseraten, z.B. in der Skelettmuskulatur, welche während aktiver Zustände viel Laktat produzieren und in die Zirkulation abgeben können. Die LDH-1 (Herz-Typ) führt zu einer bevorzugten Reaktion in die Richtung der Umwandlung von Laktat zu Pyruvat. Sie findet sich vermehrt in Geweben, welche Laktat als ein Substrat

verstoffwechseln können, z.B. der Herzmuskulatur (Cahn et al., 1962). Das während erhöhter Belastung anfallende Laktat hemmt die Phosphofruktokinase, ein Schlüsselenzym der Glykolyse, und beschränkt damit seine eigene Laktatproduktionsgeschwindigkeit. Dies ist sinnvoll, da mit einem Anstieg der Laktatkonzentration ein leistungshemmender Abfall des Blut-pH-Wertes verbunden ist, wenn die Pufferkapazität des Blutes überschritten ist. Das anfallende Laktat wird schon während der Belastungssituation nach Umwandlung zu Pyruvat über den Zitratzyklus und die Atmungskette in der Skelettmuskulatur, im Herzmuskel, in der Niere und in der Leber wieder eliminiert. In der Leber wird Laktat als Substrat der Glukoneogenese verwendet. Neu synthetisierte Glukose wird an den Blutkreislauf abgegeben und steht den Glukose verbrauchenden Geweben erneut zur Verfügung oder kann je nach Energiestatus auch in der Leber als Glykogen gespeichert werden (Cori-Zyklus).

Bei systemischer Hypoglykämie wird im Rahmen der Gegenregulation vermehrt Laktat aus dem Skelettmuskel freigesetzt, welches aus dem Glykogenabbau stammt, und dann in der Leber als Substrat der gesteigerten Glukoneogenese genutzt. Somit leistet die Laktat-Produktion der Skelettmuskulatur auch im Rahmen der hypoglykämischen Gegenregulation einen wichtigen Beitrag (Meyer et al., 2005).

1.2.2 Pathologisch erhöhte Laktatwerte und Laktatazidose

Die Normalwerte für Laktat im Plasma liegen bei 0,6 – 2,4 mmol/l. Bei Störungen des aeroben Glukoseabbaus kommt es zu vermehrtem Anfall von Laktat, woraus sich eine Laktatazidose entwickeln kann. Dies kann auftreten bei Sepsis und Schockgeschehen, bei Gewebshypoxien und Gewebnekrosen, aber auch bei Vergiftung mit Ethanol oder Methanol (English und Williams, 2004) oder selten auch als Komplikation einer Therapie mit Metformin (Lalau, 2010). Klinische Zeichen der Azidose sind periphere Vasodilatation mit Blutdruckabfall und Herzfrequenzanstieg, bedingt durch die Wirkung der H⁺-Ionen auf die glatte Gefäßmuskulatur. Bei schwerer Azidose kommt es zur Störung der Zellfunktion im Herzmuskel und anderen Organen. Durch kompensatorische Kaliumverschiebung in den Extrazellulärraum kommt es zur Hyperkaliämie, was zu bedrohlichen Herzrhythmusstörungen führen kann. Im Sinne einer respiratorischen Kompensation zeigt sich eine vertiefte Kussmaulatmung (English und Williams, 2004). Beim laktatazidotischen Koma liegt definitionsgemäß ein veränderter Bewußtseinszustand bei einem Blutlaktatspiegel > 5 mmol/l

und einem $\text{pH} < 7,25$ vor, ein Zustand mit hoher Letalität (Payne, 1966).

1.2.3 Laktat als alternatives Energiesubstrat für Neurone

Das Prinzip "Energy on demand" beschreibt die lokale Antwort der Astrozyten auf die glutamaterge Aktivität der Neurone, um den Neuronen Laktat zur Energieversorgung zur Verfügung zu stellen (Pellerin und Magistretti, 1994, Magistretti und Pellerin, 1997, Magistretti et al., 1999), auch bezeichnet als die "Astrozyten-Neuronen-Laktat-Shuttle-Hypothese" (Kasischke et al., 2004, Pellerin und Magistretti, 2004). Die Glukoseaufnahme, Glykolyse und Produktion von Laktat in den Astrozyten wird durch die glutamaterge Aktivität der Neurone stimuliert (Pellerin und Magistretti, 1994, Magistretti und Pellerin, 1997, Magistretti et al., 1999). Das Laktat wird von den Astrozyten abgegeben und durch benachbarte Neurone aufgenommen. Nach Oxidation zu Pyruvat durch die LDH (in den Neuronen vorwiegend LDH-1) wird es im Zitratzyklus abgebaut und über die Atmungskette wird Energie gewonnen (Magistretti und Pellerin, 1997). Die Verteilung der LDH-Typen unterstützt die Hypothese eines Laktat-Flusses zwischen Astrozyten und Neuronen, wobei in den LDH-5 reichen Astrozyten Laktat produziert und dieses in den LDH-1 reichen Neuronen nach der Umwandlung zu Pyruvat oxidiert wird (Bittar et al., 1996). Jedoch bleibt die Hypothese des Astrozyten-Neuronen-Laktat-Shuttles umstritten und es gibt Gegenstimmen, die diese Hypothese widerlegen wollen (Chih et al., 2001, Chih und Roberts, 2003).

Laktat und andere Monocarboxylate (z.B. Pyruvat und Ketonkörper) übertreten die Zellmembran über spezialisierte Transmembran-Proteine, die Monocarboxylase-Transporter (MCT). Die Richtung des Transportes ist dabei abhängig vom Konzentrationsgradient und vom pH-Wert. Im Gehirn finden sich drei verschiedene Typen von MCT: MCT-1, MCT-2 und MCT-4 (Pierre und Pellerin, 2005). Der MCT-4 scheint spezifisch zu sein für Astrozyten, in Neuronen findet man vorherrschend den MCT-2 (Pierre und Pellerin, 2005). Die Verteilung der MCT unterstützt ebenfalls die Idee des Laktat-Shuttles von Astrozyten zu Neuronen, verglichen mit der Verteilung der MCT in glykolytischen und oxidativen Kompartimenten im Muskelgewebe (Bergensen, 2007). Bei Untersuchungen an Ratten, bei denen der neuronale MCT-2 gehemmt wurde und die Auswirkungen auf pH-Änderungen untersucht wurden, bestätigten sich Hinweise auf die Astrozyten-Neuronen-Laktat-Shuttle-Hypothese (Erlichman et al., 2008).

Direkte Messungen durch Mikrodialyse an menschlichen Probanden und an Ratten zeigten eine andere Verteilung der Laktatspiegel in der extrazellulären Flüssigkeit im Gehirn, welche die Neurone umgibt, als zuvor angenommen wurde: Die Laktatspiegel im extrazellulären Hirnkompartiment sind drei- bis fünfmal höher als im Plasma. Im Vergleich dazu wurden interstitielle Glukosekonzentrationen im Gehirn von 25-30 % der systemischen Glukosespiegel gemessen (Abi-Saab et al., 2002). Diese Verteilung unterstützt ebenfalls die Annahme, dass aus dem Glukosestoffwechsel stammendes Laktat ein wichtiges Substrat für Neurone ist (Abi-Saab et al., 2002, Borg et al., 2003).

Laktat kann die Blut-Hirn-Schranke überschreiten mit einer Permeabilität, die etwa bis zu 50 % der Permeabilität von Glukose entspricht (Knudsen et al., 1991). Der Transport über die spezialisierten MCT ist auch hierbei entscheidend (Tildon et al., 1993, Price et al., 1998). Exogenes Laktat aus der peripheren Zirkulation könnte nach Übertritt über die Bluthirnschranke den Neuronen auch direkt als ein Energiesubstrat dienen (Smith et al., 2003) und so seine mildernde Wirkung auf die hypoglykämische hormonelle Gegenreaktion, hypoglykämische kognitive Beeinträchtigung und Hypoglykämiesymptome ausüben (s.u.) (Maran et al., 1994, Veneman et al., 1994, King et al., 1997, Maran et al., 2000).

1.2.4 Wirkung von Laktat auf die hypoglykämische neuroendokrine Gegenregulation und Hypoglykämie-Symptome

Bei hypoglykämischen Versuchen an gesunden menschlichen Probanden schwächt eine Laktatinfusion die neuroendokrine Gegenregulation und die neurokognitive Beeinträchtigung ab (Maran et al., 1994, Veneman et al., 1994, King et al., 1997, Maran et al., 2000, Schmid et al., 2008), ohne dass dabei ein Adaptationsprozess nötig ist (Maran et al., 2000). Neuroglykopenie und autonome Symptome werden ebenfalls gemildert (Maran et al., 1994, Veneman et al., 1994). Die dabei in den Versuchen erreichten Plasmalaktatspiegel lagen bei Werten, die etwa in dem physiologischen Rahmen liegen, wie sie bei sportlicher Aktivität erreicht werden (etwa 1,6 – 3,5 mmol/l bei Maran et al., 1994, King et al., 1997 und Maran et al., 2000 bzw. etwa 5,4 mmol/l bei Venemann et al., 1994). Ähnliche Ergebnisse brachten auch vergleichbare Versuche an Personen, die an einem insulinpflichtigen Diabetes mellitus erkrankt waren. Hier milderte die Laktatinfusion unter hypoglykämischen Clampversuchen die kognitive Beeinträchtigung und schwächte auch die neuroendokrine Gegenregulation ab (King

et al., 1998).

Während starker körperlicher Anstrengung können die Plasmalaktatspiegel Werte von 10 mmol/l erreichen (Stanley et al., 1985). Unter solchen Bedingungen können die Plasmaglukosespiegel unter 2,5 mmol/l sinken, ohne dass Symptome einer Hypoglykämie auftauchen, und auch ohne dass dadurch die Ausdauerleistung herabgesetzt wird (Felig et al., 1982, Coyle et al., 1986). Auch in dieser Situation könnte Laktat als Substitut für Glukose dem Gehirn als Energiesubstrat dienen.

Die dämpfende Wirkung von Laktat auf die Hypoglykämie-Gegenregulation konnte auch beobachtet werden während einer lokalen Laktatperfusion des ventromedialen Hypothalamus bei Ratten (Borg et al., 2003). Bei diesen Versuchen führte die lokale Perfusion des ventromedialen Hypothalamus mit einer Laktatlösung (mit dem Isomer L-Laktat) während einer systemischen Hypoglykämie zu einer Senkung der gegenregulatorischen Hormonantwort um 80 – 85 % (im Vergleich mit der Kontrollgruppe, bei der das nicht zu metabolisierenden Isomer D-Lakat infundiert wurde). Die Suppression der hormonellen Antwort war außerdem begleitet von einer etwa viermal höheren Glukoseinfusionsrate, die nötig war, um die Hypoglykämie auf dem erwünschten Wert zu halten.

Im Rahmen weiterer euglykämischer Versuche konnte gezeigt werden, dass eine Infusion von Laktat in die Ventrikel des Gehirns zu einer deutlichen Absenkung der Blutglukosespiegel führt (Lam et al., 2005). Bei diesen euglykämischen Versuchen mit der Infusion einer Laktatlösung wurden damit die Effekte einer Glukoseinfusion in die Ventrikel des Gehirns exakt nachgeahmt (Lam et al., 2005). Um das Laktat nutzen zu können, muss es durch die LDH in den Neuronen zu Pyruvat oxidiert werden (Bittar et al., 1996). Bei gleichzeitiger Infusion des LDH-Hemmstoffes Oxamat wurden die Effekte einer Laktatinfusion auf die Blutglukosespiegel aufgehoben (Lam et al., 2005). Es konnte gezeigt werden, dass durch die Laktat- bzw. die Glukoseinfusion die hepatische Glukoseproduktion gehemmt wird. Der zugrundeliegende Signalweg zur Peripherie ist dabei unbekannt, wobei die Vermittlung über neuroendokrine Mechanismen und das autonome Nervensystem naheliegend erscheint (Schmid et al., 2008).

Ob eine systemische Laktatinfusion unter euglykämischen Versuchsbedingungen die Sekretion der Hormone, die den Glukosestoffwechsel regulieren, und insbesondere die Ausschüttung der gegenregulatorischen insulinantagonistischen Hormone beeinflusst, ist nicht

bekannt. Eine Studie beschreibt, dass die Serumkonzentrationen von Glukagon unter euglykämischer Darreichung von Laktat nicht signifikant unterschiedlich waren im Vergleich zu denen unter einer Placeboinfusion (Bei Laktatgabe: $46,6 \pm 2,2$ versus bei Placebogabe: $60,4 \pm 4,7$ pg/ml) (Miller et al., 2002). Das Fehlen der statistischen Signifikanz des Unterschieds könnte hier aber durch die kleine Anzahl ($n = 6$) der untersuchten Probanden bedingt sein. In einer anderen Studie kam es unter hyperinsulinämisch-euglykämischen Clampversuchen und gleichzeitiger Infusion von Laktat zu einer deutlichen Zunahme der Glukoseinfusionsrate, die zur Aufrechterhaltung der Euglykämie nötig war (Ferrannini et al., 1993). Dieser Befund lässt vermuten, dass Laktat die Insulinsensitivität erhöht. Dies könnte möglicherweise ein Effekt einer verminderten Sekretion kontrainsulinärer Hormone sein, welcher in der betreffenden Studie jedoch nicht untersucht worden war (Schmid et al., 2008).

1.3. Zentrale Glukosesensoren

1.3.1 Besonderheiten, Verteilung und Funktion der Glukosesensoren

Neben den Insulin-sezernierenden β -Zellen des Pankreas sind die Glukosesensoren im ZNS wesentlich an der Aufrechterhaltung der Energiehomöostase des Organismus durch die Regulation von neuroendokrinen Funktionen und Nahrungsaufnahme involviert (Levin et al., 2004). Diese glukosemessenden Neurone sind spezialisierte Zellen, die Glukose als ein Signalmolekül nutzen, um die Frequenz ihrer Aktionspotentiale als Reaktion auf Veränderungen der umgebenden Glukosespiegel anzupassen (Levin et al., 1999, Levin, 2002, Levin et al., 2004). Im Gegensatz zu der großen Masse der Neurone, die Glukose nutzen, um ihren metabolischen Ansprüchen gerecht zu werden, nutzen diese spezialisierten Neurone die Produkte der intrazellulären Glukosemetabolisation, um ihre Aktivität und Transmitterfreisetzung zu regulieren (Levin et al., 1999, Levin, 2002, Levin et al., 2004). Sie sind eng involviert in die Regulation der Energiehomöostase und die Regulation von neuroendokrinen Funktionen (Levin et al., 2004, Claret et al., 2007, Levin, 2007, Parton et al., 2007). Es werden zwei verschiedenen Typen der glukosemessenden Neurone unterschieden: Die glukoseresponsiven Neurone (Glucose-excited, Glucose-responsive neurons) und die glukosesensitiven Neurone (Glucose-inhibited, Glucose-sensitive neurons) (Levin et al., 1999,

Levin, 2002, Levin et al., 2004). Bei steigenden umgebenden Glukosespiegeln erhöhen die glukoseresponsiven Neurone ihre Aktivität, während die glukosesensitiven Neurone ihre Aktivität vermindern. Die glukosesensitiven Neurone erhöhen ihre Aktivität dagegen bei niedrigen Glukosespiegeln (Levin et al., 1999, Levin, 2002, Levin et al., 2004).

Die Glukosesensoren sind an verschiedenen anatomisch getrennten Orten des Gehirns zu finden, die daher zu verschiedenen quantitativen und zeitlichen Änderungen der Glukosespiegel exponiert sind. Generell befinden sich die glukosemessenden Neurone an Orten des Gehirns, die in die Kontrolle der neuroendokrinen Funktionen, der Regulation der Nahrungsaufnahme und der Regulation der Energiehomöostase involviert sind: im ventromedialen Hypothalamus, im Nucleus arcuatus der mittleren und im Nucleus paraventricularis der vorderen Kerngruppe des Hypothalamus, in der Area postrema und in den Nuclei tractus solitarii (Levin et al., 1999, Levin, 2002, Levin et al., 2004). Aber auch peripher im Körper gibt es Glukosesensoren: im Glomus caroticum (Koyama et al., 2000), in der Vena porta (Donovan, 2002, Matveyenko und Donovan, 2006) und im Darm (Liu et al., 1999). Die zentralen Glukosesensoren erhalten auch von peripheren Sensoren Informationen zur Glukoseverfügbarkeit (Levin et al., 1999). Neben dem direkten und indirekten neuralen Input aus der Peripherie erhalten die zentralen Glukosesensoren außerdem von anderen Regionen des Gehirns Informationen über Aussehen, Geruch, Geschmack, die viszerale Verarbeitung und resultierende Blutspiegel von aufgenommenen Nahrungsmitteln (Levin et al., 1999). Die Glukosesensoren integrieren die zentralen und peripheren Informationen und geben diese verarbeiteten Signale an die Effektorsysteme weiter, welche an der Regulation des Glukosestoffwechsels und der Energiehomöostase beteiligt sind (Levin et al., 2004). Eine wichtige Funktion in der Regulation der Energiehomöostase haben die im Nucleus arcuatus befindlichen Neuropeptid Y (NPY)- und Proopiomelanocortin (POMC)-Neurone. NPY-Neurone sind anabolische glukosesensitive Neurone, POMC-Neurone sind katabolische glukoseresponsive Neurone. Beide haben Rezeptoren für Leptin und Insulin und beantworten und integrieren diese peripheren Hormone. Durch ihre Projektionen in Zentren, welche neuronendokrine, metabolische und autonome Funktionen steuern, sind sie maßgeblich in die Regulation der Energiehomöostase und des Glukosestoffwechsels involviert (Levin et al., 2004).

1.3.2 Funktionsmechanismen in der glukoseabhängigen Regulation von Aktivität und Transmitterfreisetzung

Die Glukosesensoren nutzen Glukose in einer konzentrationsabhängigen Weise als ein Signalmolekül, um ihr Membranpotential und ihre Aktionspotentialfrequenz zu regulieren. In vielerlei Hinsicht ähneln die glukoseresponsiven Neurone den pankreatischen β -Zellen (Yang et al., 1999). Die glukosesensitiven Neurone haben Ähnlichkeit mit den β -Zellen des Pankreas. Glukoseresponsive Neurone und β -Zellen werden aktiviert und glukosesensitive Neurone und β -Zellen werden inhibiert durch steigende Glukosespiegel (Levin et al., 2004). Die Mechanismen der glukoseabhängigen Regulation von neuronaler Aktivität und Transmitterfreisetzung sind bei den glukoseresponsiven Neuronen besser erforscht als bei den glukosesensitiven Neuronen.

Für die Beschreibung der Mechanismen der Glukosemessung und der damit verbundenen Regulierung der Aktivität gibt es für die glukoseresponsiven Neurone folgendes hypothetisches Modell (Levin et al., 2004): Hauptsächlich über den Glukosetransporter 3 (GLUT 3), bei manchen Neuronen auch über den GLUT 2 oder GLUT 4, wird Glukose von den Neuronen intrazellulär aufgenommen (Kang et al., 2004). Intrazelluläre Glukose wird durch die Hexokinase I bzw. bei vielen glukosemessenden Neuronen über die pankreatische Form Hexokinase IV, die Glukokinase, im ersten Schritt der Glykolyse zu Glukose-6-Phosphat phosphoryliert (Yang et al., 1999, Dunn-Meynell et al., 2002, Yang et al., 2004, Kang et al., 2006). Der Glukosemetabolismus erhöht das Verhältnis von ATP zu ADP. ATP bindet an ATP-sensitive K^+ -Kanäle (K_{ATP} -Kanäle), welche dadurch inaktiviert werden und sich schließen (Ashford et al., 1990, Levin et al., 1999, Miki et al., 2001, Evans et al., 2004, Levin et al., 2004). Das Schließen der K_{ATP} -Kanäle führt zur Depolarisation der Zellmembran und zum Aktionspotential des Neurons (Ashford et al., 1990, Levin et al., 1999, Miki et al., 2001, Evans et al., 2004, Levin et al., 2004). Der Depolarisation folgt ein Einstrom von extrazellulärem Calcium durch spannungsabhängige Calcium-Kanäle und Freisetzung von Neurontransmittern an der Nervenendigung (Levin et al., 1999, Levin et al., 2004).

Der ATP-sensitive K^+ -Kanal scheint bei den glukoseresponsiven Neuronen den bedeutenden Mechanismus darzustellen, welcher die Änderung des intrazellulären ATP/ADP-Verhältnisses weitergibt und in die Änderung des Membranpotentials und der neuronalen Aktivität übersetzt (Ashford et al., 1990, Miki et al., 2001, Evans et al., 2004). Bei der

Regulation der Glukosemessung und der neuronalen Aktivität scheint außerdem die Funktion der Glukokinase eine entscheidende Rolle zu spielen (Yang et al., 1999, Dunn-Meynell et al., 2002, Yang et al., 2004, Kang et al., 2006), wie sie es auch bei der pankreatischen β -zellulären Glukosemessung und Insulinsekretion tut (Yang et al., 1999, Kang et al., 2006). Auch bei den glukosesensitiven Neuronen scheint die Glukokinase diese regulierende Funktion zu übernehmen (Yang et al., 1999, Dunn-Meynell et al., 2002, Yang et al., 2004, Kang et al., 2006). Außerdem scheint bei den glukosesensitiven Neuronen ein Cl^- -Kanal als Signalweg der Glukosemessung zu fungieren, wobei eine Schließung der Cl^- -Kanäle mit einer Depolarisation der Zellmembran einhergeht (Levin et al., 2004). Desweiteren stehen eine Na^+ - K^+ -ATP-Pumpe und ein ATP-responsiver K^+ -Kanal in der Diskussion, als mögliche Mechanismen der Glukosemessung und Regulierung der neuronalen Aktivität zu wirken, aber letztlich ist dies bei den glukosesensitiven Neuronen noch unklar (Levin et al., 2004).

Die Hexokinase I ist im Vergleich mit der Glukokinase (Hexokinase IV) ungeeignet zur Regulation der Glukosemessung, da die Hexokinase I bei physiologischen Glukosekonzentrationen im Gehirn gesättigt ist und durch ihr Produkt Glukose-6-Phosphat eine Feedback-Hemmung erfährt (Levin et al., 2004). Die Glukokinase dagegen wird nicht durch ihr Endprodukt gehemmt und hat eine größere Michaeliskonstante (K_m). Die mRNA der Glukokinase ist zu finden bei etwa 70 % der glukoseresponsiven Neurone und bei etwa 40 % der glukosesensitiven Neurone (Kang et al., 2004). Die pharmakologische Hemmung der Glukokinase vermindert die Aktivität in glukoseresponsiven (durch Glukose angeregte) Neuronen und erhöht die Aktivität in glukosesensitiven (durch Glukose gehemmte) Neuronen (Yang et al., 1999, Dunn-Meynell et al., 2002, Yang et al., 2004). Bei Versuchen an Ratten mit erhöhter mRNA-Expression der Glukokinase im ventromedialen Hypothalamus zeigten die Tiere eine reduzierte gegenregulatorische Antwort auf eine systemische Hypoglykämie (Dunn-Meynell et al., 2002), möglicherweise bedingt durch eine Verschiebung zu geringerer Sensitivität der Glukokinase auf Glukose. Auch zeigte sich die Glukokinase-Expression signifikant erhöht bei untersuchten Ratten, die eine beeinträchtigte zentrale Glukosemessung aufwiesen: Dies zeigte sich 48 Stunden nach einer erstmalig aufgetretenen Hypoglykämie und auch bei einer durch entsprechende Diät verursachten Adipositas (Dunn-Meynell et al., 2002). Unklar ist es allerdings, wie die Glukokinase bei den sehr geringen Schwankungen der Glukosekonzentration im Gehirn die Glukosemessung regulieren kann. Außerdem gibt es auch

glukosemessende Neurone, in denen keine Glukokinase nachgewiesen werden konnte (Kang et al., 2004).

In den hypothalamischen glukosemessenden Neuronen fungiert zusätzlich die Adenosinmonophosphat (AMP)-aktivierte Proteinkinase (AMPK) als ein Energiesensor, der als einer der Eingangsmechanismen zur Kontrolle des Membranpotentials dient (Minokoshi et al., 2004, Levin, 2007). Ursprünglich wurde die AMPK im Wesentlichen für eine Anzeige des zellulären Energiestatus gehalten (Kahn et al., 2005, Hardie et al., 2006). Es gibt jedoch Hinweise dafür, dass die AMPK in die Regulation der Energiehomöostase des gesamten Körpers involviert ist. Dabei agiert sie in Geweben, die in die Regulation des Stoffwechsels einbezogen sind, und sie beantwortet und integriert auf zentraler Ebene nahrungsbedingte und hormonelle Signale (Kahn et al., 2005, Hardie et al., 2006). Die AMPK ist ein heterotrimerisches Protein mit einer katalysatorischen α -Untereinheit und einer regulatorischen β - und γ -Untereinheit (Kahn et al., 2005, Hardie et al., 2006). Die AMPK wird aktiviert durch ein erhöhtes Verhältnis von AMP zu ATP. Sie reagiert dabei sehr empfindlich auf erhöhte AMP-Spiegel. Diese steigen bei zellulärem Stress oder Energiemangel, wie bei Hypoxie, Ischämie oder Hypoglykämie, was zu verminderter ATP-Produktion führt, oder in Situationen mit erhöhtem ATP-Verbrauch, wie z.B. bei Muskelarbeit (Kahn et al., 2005, Hardie et al., 2006). Wenn die Glukoseverfügbarkeit abnimmt, steigen die AMP-Spiegel und aktivieren die AMPK. Die AMPK wirkt auf bislang unbekannte Signalgeber, um die neuronale Aktivität zu verändern. Solch ein Signalgeber wäre der K_{ATP} -Kanal, der jedoch nicht mit der AMPK-Aktivierung verknüpft zu sein scheint (Levin, 2007). Allgemein werden durch die AMPK katabolische Signalwege aktiviert, welche ATP produzieren, und gleichzeitig ATP-konsumierende Prozesse vermindert. Es werden die Glukoseaufnahme, die Glykolyse und die Fettsäureoxidation gesteigert, wohingegen die Protein- und Glykogensynthese und die Glukoneogenese gedrosselt werden (Hardie et al., 2006). Dies geschieht durch akute Phosphorylierung von metabolischen Enzymen und langfristiger Änderung der Gen-Expression (Kahn et al., 2005). Die AMPK ist der Angriffspunkt des weit verbreitet angewendeten antidiabetischen Pharmakons Metformin. Metformin aktiviert auf indirektem Wege die AMPK (Shaw et al., 2005, Hardie et al., 2006).

1.3.3 Interaktion zwischen Laktat und Glukosesensoren

Bei den glukosemessenden Neuronen, welche keine Glukokinase exprimieren, könnte auch die symbiotische Beziehung zwischen Neuronen und Astrozyten bei der Glukosemessung eine Rolle spielen. Dabei wird den Neuronen von den benachbarten Astrozyten Laktat zur Verfügung gestellt, welches dann die Aktivität der Neurone regulieren könnte (Tsacopoulos und Magistretti, 1996, Magistretti et al., 1999). Die Astrozyten nehmen Glukose auf, speichern diese auch als Glykogen und geben glykolytisch gewonnenes Laktat in den extrazellulären Raum ab (Pellerin und Magistretti, 1994). Das abgegebene Laktat wird über Monocarboxylase-Transporter (MCT-1) in die benachbarten Neurone aufgenommen. Dort wird es, katalysiert durch die LDH (vorwiegend LDH-1), zu Pyruvat oxidiert, um dann in den Mitochondrien im Zitratzyklus oxidativ abgebaut zu werden und über die Atmungskette und die gekoppelte oxidative Phosphorylierung ATP zu liefern (Kang et al., 2004). Neben dem Energiegewinn durch Laktat reagieren glukoseresponsive Neurone des ventromedialen Hypothalamus in ihrer Aktivität, wenn sich die extrazellulären Laktatkonzentrationen ändern (Yang et al., 1999). Laktat stimuliert die Neurone dabei mindestens so effektiv wie Glukose und imitiert die Effekte von Glukose auf hypothalamische glukosemessende Neurone (Yang et al., 1999). Dies konnte durch in-vitro Aufnahmen der neuronalen Feuerungsrate gezeigt werden (Tsacopoulos, 1996, Yang et al., 2004). Aber auch wenn die Neurone das aus den Astrozyten bereitgestellte Laktat als Signalquelle nutzen können, können die glukosemessenden Neurone auch bei kompletter Abwesenheit von Laktat Glukosekonzentrationen messen und beantworten (Dunn-Meynell et al., 2002, Kang et al., 2004). Es ist also auch denkbar, dass das Laktat, welches den Neuronen durch die Astrozyten geliefert wird, eher als ein alternatives Substrat des neuronalen Stoffwechsels genutzt wird, denn als Signalmolekül, welches die neuronale Aktivität reguliert (Dunn-Meynell et al., 2002, Bouzier-Sore et al., 2003, Kang et al., 2004).

1.3.4 Glukosesensoren sind metabolische Sensoren

Die Glukosesensoren messen nicht nur Glukose, sie sind metabolische Sensoren. Die glukosemessenden Neurone beantworten und integrieren eine Vielzahl an hormonellen, metabolischen und peptidischen Signalen und Transmittern, welche in die Regulation der Energiehomöostase und anderer biologischer Funktionen involviert sind (Levin, 2002, Levin

et al., 2004). Es hat sich gezeigt, dass neben Glukose und dem schon beschriebenen Einfluss von Laktat verschiedene Substrate wie Ketonkörper und freie Fettsäuren mit den zentralen Glukosesensoren interagieren (Yang et al., 1999, Levin et al., 2004, Yang et al., 2004). Langkettiges Acyl-Coenzym A aktiviert den K_{ATP}-Kanal und vermindert die Glukokinase-Aktivität (Levin et al., 2004). Glukosesensoren haben Rezeptoren für Leptin und Insulin und beantworten und integrieren diese Hormone (Levin et al., 2004). Leptin und Insulin haben auf die hypothalamische AMPK-Aktivität einen mindernden Einfluss (Minokoshi et al., 2004).

1.3.5 Rolle der Glukosesensoren in der Regulation von physiologischen Funktionen

Eine einfache direkte Verknüpfung von neuronaler Glukosemessung und der Regulation der Energie- und Glukosehomöostase kann nicht gemacht werden, da viele Untersuchungen der Glukosesensoren bei Glukosespiegeln stattfanden, die außerhalb des physiologischen Bereiches der extrazellulären Hirnglukosespiegel liegen (Routh, 2002). Neuere Untersuchungen (Claret et al., 2007, Parton et al., 2007) haben unterschiedliche Ergebnisse geliefert, so dass die physiologische Rolle der hypothalamischen Glukosesensoren letztlich unklar bleibt und die Zusammenhänge zwischen Glukoseverfügbarkeit und Nahrungsaufnahme noch viele offene Fragen bergen (Levin, 2007). Sicher jedoch spielt die neuronale Glukosemessung eine wichtige vermittelnde Funktion bei der Nahrungsaufnahme und der hormonellen Gegenregulation bei insulin-induzierter Hypoglykämie (Routh, 2002, Levin et al., 1999, Levin et al., 2004). Eine lokale Glukopenie im ventromedialen Hypothalamus aktiviert die neuronendokrine hypoglykämische Gegenregulation (Borg et al., 1995) und die lokale Glukose-Perfusion des Hypothalamus supprimiert die hormonelle Antwort während einer systemischen Hypoglykämie (Borg et al., 1997). Dies sind jedoch Notfall-Reaktionen, welche die Verfügbarkeit von zerebraler Glukose sicherstellen und die zerebrale Funktion aufrechterhalten. Eine sehr geringe Glukoseverfügbarkeit steigert die Nahrungsaufnahme und die gegenregulatorische Hormonantwort. Ob auch die täglichen physiologischen Schwankungen der Blutglukosespiegel eine spezifische regulatorische Rolle für diese Funktionen spielen, ist anzunehmen aber letztlich nicht bewiesen (Routh, 2002, Levin et al., 2004). Die basalen Glukosespiegel wirken dabei möglicherweise als eines von vielen Signalen mit, welches von den Glukosesensoren auf der Ebene ihres Membranpotentials integriert wird (Levin et al., 2004).

1.3.6 Die Veränderung der Glukosemessung im Krankheitsfall

Die Glukosemessung ist verändert bei Adipositas (Levin et al., 1999, Dunn-Meynell, 2002, Levin et al., 2004) und nach wiederholtem Auftreten von Hypoglykämien (Dunn-Meynell et al., 2002, Levin et al., 2004). Damit scheint die veränderte Glukosemessung relevant zu sein für die meist ungünstigen Verläufe dieser Erkrankungen (Levin et al., 2004).

Im Zusammenhang mit der häufig angewendeten intensivierten Insulintherapie bei Patienten mit Diabetes Mellitus Typ 1 (oder auch bei Patienten mit Diabetes Mellitus Typ 2 mit starker Beeinträchtigung der endogenen Insulinproduktion) ist eine erhöhte Inzidenz von Anfällen schwerer Hypoglykämien verbunden (DCCT Research Group, 1993). Die Folgen solcher schweren Hypoglykämien sind die Entwicklung eines Circulus vitiosus mit verminderter Wahrnehmung von hypoglykämischen Symptomen (Gerich et al., 1991, Amiel, 2001) und gestörter hormoneller Gegenregulation (Amiel et al., 1987, Cryer et al., 2003) (s. oben, Kapitel 1.1.4). Man kann diese Veränderungen als Adaptation interpretieren, wodurch das Gehirn Glukose bei niedrigen Konzentrationen effektiver nutzen kann. In diesem Adaptationsprozess scheinen auch die hypothalamischen Glukosesensoren eine wesentliche Rolle zu spielen. Die verminderte hormonelle Gegenregulation ist assoziiert mit einer verstärkten hypothalamischen mRNA-Expression der Glukokinase 48 Stunden nach dem erstmaligen Auftreten einer Hypoglykämie (Dunn-Meynell et al., 2002). Eine erhöhte Enzym-Aktivität der Glukokinase mag die Neurone befähigen, entsprechend ATP auch bei niedrigeren Glukosespiegeln zu produzieren. Dadurch scheint dann die Reizschwelle für Glukose verschoben zu sein, bei der die gegenregulatorische Antwort in einer hypoglykämischen Situation ausgelöst wird (Levin et al., 2004).

Die genaue physiologische Relevanz und Mitwirkung der β -zell-ähnlichen neuronalen Glukosemessung an Krankheiten wie dem Diabetes Mellitus Typ 2 bleibt aber bislang unbekannt. Es wurden Versuche an Mäusen mit unterbrochener Fähigkeit der Glukosemessung in POMC-Neuronen durchgeführt, bei denen die Funktion der K_{ATP} -Kanäle ausgeschaltet war. Dabei zeigte sich eine beeinträchtigte Reaktion auf systemisch erhöhte Glukosespiegel (Parton et al., 2007). Dies weist auf eine Rolle der POMC-Neurone in der Kontrolle der Blutglukosespiegel hin. Des Weiteren entwickelten auch adipöse hochfettreich ernährte Mäuse eine gestörte Glukosemessung in den POMC-Neuronen (Parton et al., 2007). Dies liefert Hinweise dafür, dass der Verlust der Glukosemessung der Neurone eine Rolle in

der Entwicklung des Diabetes mellitus Typ 2 spielen könnte (Parton et al., 2007).

Bei anderen Versuchen zur Untersuchung der Glukosemessung der POMC-Neurone wurden Mäuse mit defekter Funktion der AMPK generiert (Claret et al., 2007). Dabei entwickelten die Mäuse mit diesen defekten POMC-Neuronen eine Fettleibigkeit. Die Neurone blieben aber weiter für Leptin und Insulin empfindlich. Jedoch zeigten die defekten Neurone fehlende Antworten auf Veränderungen der extrazellulären Glukosekonzentrationen (Claret et al., 2007). Diese Versuche zeigen, dass die AMPK eine Schlüsselrolle in der Regulation der hypothalamischen Funktionen spielt, aber nicht als ein genereller Sensor und Integrator der Energiehomöostase im mediobasalen Hypothalamus fungiert (Claret et al., 2007).

1.4 Pankreatische β -zelluläre Glukosesensoren

1.4.1 Funktionsmechanismen der Glukosemessung und Insulinsekretion

Die Insulinsekretion der β -Zellen steht als ein eng regulierter Prozess unter der strengen Kontrolle durch Blutglukosekonzentrationen, neuralem Input und zirkulierenden Hormonen.

Die Insulinsekretion wird durch verschiedene Mechanismen im Gleichgewicht gehalten:

ATP-sensitive K^+ -Kanäle, die sich bei steigendem intrazellulärem ATP/ADP-Verhältnis infolge erhöhter Glukosemetabolisation schließen, führen zur Depolarisation der Plasmamembran mit folgendem Aktionspotential (Cook und Hales, 1984). Dadurch kommt es zur Öffnung von spannungsabhängigen Ca^{2+} -Kanälen und Ca^{2+} -Einstrom in die β -Zelle. Erhöhte intrazelluläre Konzentrationen an freiem Ca^{2+} sind der Hauptstimulus für die Insulinsekretion durch Vesikel-Fusion mit der Plasmamembran (Rorsman et al., 2000).

Es ist allgemein anerkannt, dass die intrazelluläre Metabolisation von Glukose und die damit verbundene ATP-Synthese die Insulinsekretion triggert („Fuel Hypothesis“) (Hedeskov, 1980, Meglasson und Matschinsky, 1986), wobei die β -Zelle eine ungewöhnliche metabolische Spezialisierung aufweist, um die Glukosemessung an den Bedarf der Insulinsekretion abzustimmen. Zum einen wird Glukose über den GLUT 2 aufgenommen, ein Glukosetransporter mit besonders großer Kapazität (Thorens et al., 1988). Außerdem wird der erste Schritt der Glykolyse, die Phosphorylierung zu Glukose-6-Phosphat, durch die Hexokinase Typ IV, die Glukokinase, katalysiert (Iynedjian, 1993), welche eine hohe K_m im

Bereich von 10 mmol/l aufweist und durch ihr Produkt Glukose-6-Phosphat nicht gehemmt wird. Wie oben schon erwähnt, verursachen inaktivierende genetische Defekte der Glukokinase den MODY-2 (Chèvre et al., 1998, Velho et al., 1997). Auch wird diskutiert, ob Veränderungen der Glukokinase auf genetischer Ebene eine Rolle spielen könnten bei der Entwicklung des Diabetes mellitus Typ 2 (Matschinsky et al., 1993).

Eine besondere Ausprägung findet sich in der β -Zelle außerdem noch am distalen Ende des glykolytischen Stoffwechselweges. Die β -Zelle exprimiert nur verschwindend geringe Mengen an LDH und an MCT (Sekine et al., 1994, Zhao et al., 2001). Dadurch wird sichergestellt, dass nahezu 100% des aus dem Glukoseabbau stammenden Pyruvats in den Zitratzyklus eintritt und entweder zu H₂O und CO₂ abgebaut wird (etwa 75%) (Sekine et al., 1994) oder in die Proteinbiosynthese eingeht (Schuit et al., 1997). Dies scheint wichtig zu sein für die normale Insulinsekretion. Es gibt Studien, die zeigen, dass eine vermehrte Expression von LDH zu einer verminderten Insulinsekretion auf einen Glukosereiz führt (Zhao und Rutter, 1998, Ainscow et al., 2000).

Auch die AMPK steht in der Diskussion, eine Schlüsselrolle in der Regulation der Insulinsekretion einzunehmen (Salt et al., 1998, Tsuboi et al., 2003). Die AMPK wird gehemmt durch erhöhte Glukosekonzentrationen in den β -Zellen (Salt et al., 1998). Eine vermehrte Expression der AMPK führt zu nahezu vollständiger Suppression der Glukose-stimulierten Insulinsekretion (Tsuboi et al., 2003). Die genauen Mechanismen, über welche die AMPK den Glukosemetabolismus hemmt, sind noch nicht geklärt (Rutter, 2004).

1.4.2 Veränderungen der β -Zellfunktion im Krankheitsfall

Die Glukosemessung in den pankreatischen β -Zellen geht verloren während der Entwicklung eines durch Adipositas verursachten Diabetes Mellitus Typ 2 (Poitout und Robertson, 2002). Die längerfristige Exposition von β -Zellen mit erhöhten Fettsäurespiegeln führt zur β -Zell-Dysfunktion (Newgard und McGarry, 1995).

Die Fähigkeit der β -Zellen extrazelluläre Glukose zu messen und mit angemessener Insulinsekretion zu reagieren, ist auch herabgesetzt, wenn die β -Zellen einer länger andauernden Hypo- oder Hyperglykämie ausgesetzt sind (Hiriart und Aguilar-Bryan, 2008).

1.4.3 Ähnlichkeiten zwischen zentralnervösen und β -zellulären Glukosesensoren

Die pankreatischen β -Zellen und die glukosemessenden Neurone im Hypothalamus weisen beide die Eigenschaften auf, dass sie den hochkapazitären Glukosetransporter GLUT 2 und die Isoform Hexokinase IV, die Glukokinase, exprimieren (Kang et al., 2006).

Wie die Glukosemessung der β -Zellen des Pankreas beruht auch die zentralnervöse Glukosemessung wesentlich auf der Funktion von ATP-sensitiven Kaliumkanälen (Ashford et al., 1990, Miki et al., 2001), welche sich als Antwort auf entsprechende Glukosekonzentrationen schließen (Evans et al., 2004).

In den glukosemessenden Neuronen wie auch in den β -Zellen des Pankreas wird Glukose in der Glykolyse zu Pyruvat metabolisiert, welches nach Oxidation zu Acetyl-Coenzym-A im Zitratzyklus abgebaut wird und durch die Atmungskette und die gekoppelte oxidative Phosphorylierung ATP liefert (Yang et al., 1999). Über die Umwandlung von Laktat zu Pyruvat durch die LDH teilen die Messung von Glukose und Laktat einen gemeinsamen Pyruvat-abhängigen Signalweg (Schmid et al., 2008).

In verschiedenen tierexperimentellen und in-vitro Studien konnte die Glukose-imitierende Wirkung von Laktat auf die hypothalamischen glukosemessenden Neurone nachgewiesen werden (Tsacoupoulos et al., 1996, Yang et al., 1999, Borg et al., 2003, Yang et al., 2004).

Ob Laktat in ähnlicher Weise die glukosemessenden β -Zellen des Pankreas beeinflusst, ist noch nicht systematisch in einer humanexperimentellen Studie untersucht worden.

1.5 Fragestellung und Ziele

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der folgenden Fragen:

1. Es sollte untersucht werden, ob die systemische Infusion einer Laktatlösung versus einer Placebo-Kochsalzlösung einen Effekt auf die Glukosemessung der β -Zellen des Pankreas hat. Dieser Frage wurde unter euglykämischen und unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen nachgegangen. Die Wirkung wurde jeweils durch die zirkulierenden C-Peptid-Konzentrationen reflektiert und gemessen.
2. Es sollte außerdem geprüft werden, ob die Gabe einer systemischen Laktatinfusion versus einer Placebo-Kochsalzlösung unter euglykämischen Versuchsbedingungen die zentralnervöse Glukosemessung beeinflusst. Dieser Effekt wurde erfasst durch die Messung der Sekretion der Hormone der neuroendokrinen Gegenregulation (Adrenalin, Noradrenalin, Somatotropin, Kortisol und Glukagon).
3. Weiterhin sollte untersucht werden, ob der schon bekannte Einfluss von Laktat auf die zentralnervöse Glukosemessung und neuroendokrine Gegenregulation während einer Hypoglykämie bestätigt werden kann.

2. Methoden

2.1 Probanden

In der Studie wurden zehn gesunde männliche Probanden an vier Vormittagen im Schlaflabor untersucht. Es handelte sich um Männer im Alter von 20 bis 40 Jahren (Durchschnittsalter \pm Standardfehler des Mittelwerts: 24,6 Jahre \pm 0,7 Jahre), die normalgewichtig waren mit einem Body Mass Index (BMI) zwischen 20,0 und 26,2 kg/m² (Mittelwert des BMI \pm Standardfehler des Mittelwertes: 23,3 kg/m² \pm 0,6 kg/m²). Gewonnen wurden die Freiwilligen über Aushänge im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Campus Lübeck sowie aus einer Liste ehemaliger Probanden anderer Studien. Die Studie war gemäß der Deklaration von Helsinki durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck geprüft und genehmigt worden. Die Probanden wurden über den Hintergrund, den Ablauf und mögliche Nebenwirkungen der Studie aufgeklärt und gaben ihr schriftliches Einverständnis zur freiwilligen Teilnahme an den Versuchen. In einer Voruntersuchung wurde ein ausführliches Anamnesegespräch geführt und ein standardisierter Fragebogen zum Essverhalten beantwortet. Es wurden Informationen zu ihren Lebensgewohnheiten und zum Essverhalten sowie zu Vorerkrankungen und zu Erkrankungen in der Familie erfasst. Desweiteren wurde eine körperliche Untersuchung durchgeführt und ein EKG aufgezeichnet. Außerdem wurde eine Blutentnahme vorgenommen, in der ein kleines Blutbild, Elektrolyte, Nierenretentionswerte, Leberparameter, Blutfettwerte und die Blutgerinnung bestimmt wurden. In den Voruntersuchungen zeigten sich alle Probanden gesund und ohne Hinweise auf chronische oder schwerwiegende Vorerkrankungen. Sie zeigten alle ein normales Essverhalten und hatten einen regelmäßigen Schlaf-Wach-Rhythmus, keiner der Probanden arbeitete im Schichtdienst. Weiterhin nahm keiner der Probanden weder regelmäßig noch vorübergehend Medikamente ein, keiner rauchte oder nahm regelmäßig Alkohol oder sonstige Drogen zu sich. In der Familienanamnese zeigte sich kein Hinweis auf einen Typ 1 oder einen Typ 2 Diabetes mellitus in der erstgradigen Verwandtschaft. Die untersuchten Blutparameter ergaben Werte im Normbereich. Während der Zeit, in der die Probanden an der Studie beteiligt waren, spendeten sie kein Blut und nahmen nicht an anderen Studien teil. Nach Abschluss der Versuche erhielt jeder Proband eine Aufwandsentschädigung von 200 €

2.2 Studiendesign

Die Teilnehmer der Studie wurden unter vier verschiedenen Versuchsbedingungen untersucht. Die Versuche wurden vormittags jeweils mit mindestens einer Woche Abstand in randomisierter und balancierter Reihenfolge durchgeführt.

Unter jeder Bedingung gab es eine 30minütige Baseline-Phase (Zeit $t = -60$ min bis $t = -30$ min). Darauf folgte eine 30minütige Phase ($t = -30$ min bis $t = 0$ min), in der intravenös eine Laktat- (Natriumlaktat 0,8 mol/l, hergestellt durch die Apotheke des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein Campus Lübeck, vor Verwendung auf Sterilität und Pyrogene untersucht) oder Placebo-Infusion (Kochsalzlösung 0,9%) gegeben wurde. Anschließend begann der 75minütige hypo- oder euglykämische Clampversuch ($t = 0$ min bis $t = +75$ min), währenddessen die Laktat- oder Placebo-Infusion weiterlief.

Es gab folgende vier Versuchsbedingungen:

- I. Placebo-Infusion bei euglykämischem Clampversuch,
- II. Laktat-Infusion bei euglykämischem Clampversuch,
- III. Placebo-Infusion bei hypoglykämischem Clampversuch,
- IV. Laktat-Infusion bei hypoglykämischem Clampversuch.

Bezüglich der Gabe der Laktat- oder Placebo-Infusion wurde die Studie doppelt verblindet durchgeführt. Zusätzlich waren die Probanden verblindet hinsichtlich der glykämischen Versuchsbedingung.

2.3 Versuchsablauf

An den Versuchstagen trafen die Probanden morgens um 7:30 Uhr im Schlaflabor ein. Sie waren instruiert an den Tagen vor den Versuchen keinen Alkohol zu trinken und keine ungewöhnlich schweren körperlichen Arbeiten zu tätigen. Am Abend vor den Versuchen waren sie angewiesen, ein für sie normales Abendessen zu sich zu nehmen und nach 21:00 Uhr nüchtern zu bleiben, d.h. nur noch Wasser oder ungesüßten Tee zu sich zu nehmen, und waren damit bei Versuchsbeginn mindestens zehn Stunden nüchtern. Sie waren angehalten, spätestens um 23:00 Uhr zu Bett zu gehen. Auch am Versuchstag nahmen die Probanden bis

zum Ende des Versuches nur Wasser zu sich. Im Schlaflabor wurde nach einer kurzen Zwischenanamnese zur Befindlichkeit zunächst das Körpergewicht kontrolliert. Während der Versuche saßen die Probanden in einem Bett in einer halb aufrechten Position ($\sim 60^\circ$), den Rücken angelehnt am aufgestellten Kopfende, die Beine ausgestreckt im Bett.

Die Einstellung der Blutglukosekonzentration über die Zeit erfolgte nach der von DeFronzo beschriebenen standardisierten Clamptechnik (DeFronzo et al., 1979). Dafür wurde eine Venenverweilkanüle (Braunüle) in eine Vene des rechten Unterarmes gelegt. Über diesen Zugang lief die Infusion von Insulin (Insuman Rapid, Aventis, Strasbourg, Frankreich) und bedarfsadaptiert eine Glukoselösung (Glukose-Lösung 20%, Delta Pharm, Pfullingen, Deutschland). Weiterhin wurde über diesen Zugang die Laktat- bzw. Placebo-Infusion gegeben. Außerdem wurde zur Prävention einer insulininduzierten Hypokaliämie eine kaliumhaltige Lösung (Ringer-Lösung, Berlin-Chemie AG, Germany) verabreicht. Eine zweite Braunüle wurde in eine Vene des linken Unterarmes platziert und dieser Arm mit Hilfe einer beheizten Box erwärmt. Durch die Erwärmung sollte eine „Arterialisierung“ des venösen Blutes erreicht werden (Liu et al., 1992). Über diesen Zugang konnte kontinuierlich Blut zur Bestimmung des Blutglukosespiegels abgenommen werden. Außerdem erfolgten Blutabnahmen zur Bestimmung von Laktat, C-Peptid und den Hormonen der Hypoglykämie-Gegenregulation. Das Schlaflabor bestand aus zwei voneinander getrennten Räumen, zwischen denen es eine kleine Öffnung in der Wand gab. Der Proband hielt sich in einem schallgeschützten Raum auf und war über eine Kamera ständig beobachtet. Die Infusionen und Blutabnahmen wurden über 2 m lange, 2 mm dünne Kunststoffschläuche (Combidyn Druckschlauch, Pressure Monitoring Tubing PE 1 x 2 mm, 200 cm, transparent, B. Braun Melsungen A.G., Germany) vom Zimmer des Probanden durch die Wandöffnung ins Labor geleitet. Dadurch konnte erreicht werden, dass der Proband während des Versuches nicht über seine Blutglukosekonzentration informiert war und von Gesprächen im Labor abgeschirmt war.

Nach Beendigung der Vorbereitungen startete der Versuch um 8:00 Uhr ($t = -60$ min) mit der Baseline-Phase von 30 Minuten. Um 8:30 Uhr wurde die Gabe der Laktat- bzw. Placeboinfusion gestartet ($t = -30$ min). Das Laktat wurde mit einer Infusionsrate von 50 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ Körpergewicht (KG)/ min in den ersten 20 Minuten infundiert. Danach wurde die Infusion bis zum Ende des Clampversuches mit einer Rate von 30 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ KG/ min

fortgeführt, d.h. für weitere 85 Minuten. Unter der Placebo-Bedingung wurde das entsprechende Volumen einer 0,9%igen Kochsalzlösung infundiert.

Um 09:00 Uhr, d.h. 30 Minuten nach Beginn der Laktat- bzw. Placebo-Infusion, wurde der Glukose-Clampversuch gestartet ($t = 0$ min). In den ersten zwei Minuten wurde ein Bolus von 0,01 IU/ kg KG Insulin verabreicht. Danach wurde das Insulin mit einer konstanten Infusionsrate von 1,5 mIU/ kg KG/ min bis zum Ende des Clampversuches gegeben. Gleichzeitig wurde eine 20-prozentige Glukoselösung mit einer variablen Infusionsrate zur Kontrolle der Blutglukosekonzentration infundiert. Arterialisiertes Blut wurde in Intervallen von fünf Minuten zur Messung der Blutglukosekonzentration (HemoCue B-Glucose-Analyzer, Ängelholm, Schweden) abgenommen. Unter euglykämischer Bedingung wurde die Blutglukosekonzentration bei $\sim 5,0$ mmol/l gehalten. Unter hypoglykämischer Bedingung wurden die Blutglukoselevel in den ersten 25 Minuten auf ein Tief von 2,8 mmol/l fallen gelassen und dort für die nächsten 50 Minuten gehalten. Danach wurde die Insulininfusion gestoppt und die Blutglukosekonzentration innerhalb von 10 Minuten durch Erhöhung der Glukoseinfusionsrate normalisiert.

Zur Bestimmung von Laktat, C-Peptid und den Hormonen Insulin, Somatotropin, Kortisol und Glukagon aus Plasma bzw. Serum wurde Blut zu Beginn der Baseline-Phase ($t = -60$ min) abgenommen. Die nächste Blutabnahme erfolgte 20 Minuten nach Starten der Laktatinfusion ($t = -10$ min), danach 15 Minuten nach Beginn der Insulininfusion ($t = +15$ min) und daraufhin alle 15 Minuten bis zum Ende der Clamp-Periode ($t = +75$ min), insgesamt sieben Mal bis zum Ende des Clampversuches. Zur Bestimmung der Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin wurden von den ersten beiden Blutabnahmen bei $t = -60$ min und $t = -10$ min, außerdem von den letzten drei Blutabnahmen bei $t = +45$ min, $t = +60$ min und $t = +75$ min Proben gewonnen. Das Blut wurde in gekühlten Polystyrolröhrchen gesammelt und kühl gelagert. Es wurde nach spätestens 20 Minuten bei 4°C und 2000g zentrifugiert (Sigma ZK, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Deutschland). Anschließend wurde der Überschuss in 1,5 ml große Eppendorfgefäße pipettiert und dann das Plasma bzw. Serum bei -80°C tiefgefroren und so bis zur Durchführung der Analysen gelagert.

2.4 Blutzucker und Hormonbestimmungen, Labormethoden

Die Messung der Blutglukosekonzentrationen erfolgte basierend auf der Glukose-Dehydrogenase-Methode (HemoCue B-Glucose-Analyzer, Ängelholm, Schweden). Dabei betragen die intra- und inter-assay Variationskoeffizienten (VK) $< 3,5\%$ bzw. $< 2,7\%$. Die Plasmakonzentrationen von Laktat wurden mit dem AEROSET Analyser (Abbott Laboratories, Illinois, USA) gemessen, die intra- und inter-assay VK betragen hier $< 1,1\%$ bzw. $< 0,9\%$. Die Serumkonzentrationen von C-Peptid, Kortisol und Somatotropin wurden mit kommerziell erhältlichen Immunoassays (Immulite, DPC, Los Angeles USA) bestimmt. Die intra- und inter-assay VK betragen hierbei für C-Peptid $< 7,6\%$ bzw. $< 10,5\%$, für Kortisol $< 5,8\%$ bzw. $< 6,3\%$ und für Somatotropin $< 5,8\%$ bzw. $< 5,5\%$. Die Plasmakonzentrationen von Glukagon wurden mit Hilfe eines Radio-Immunoassays (Adaltis, Montral, Canada) bestimmt, wobei die intra- und inter-assay VK $< 8,0\%$ bzw. $< 8,2\%$ betragen. Die Plasmaspiegel von Adrenalin und Noradrenalin wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographen mit elektronischem Detektor (Chromosystems, München, Deutschland) bestimmt. Die intra- und inter-assay VK betragen für Adrenalin $< 2,9\%$ bzw. $< 4,2\%$ und für Noradrenalin $< 2,6\%$ bzw. $< 3,9\%$.

2.5 Statistische Auswertung

Alle Werte sind, soweit nicht anders beschrieben, angegeben in Einheiten des SI-Systems als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS 12.0 für Windows. Die Daten der Hormonbestimmungen wurden mittels Varianzanalyse (ANOVA) für mehrfache Messungen ausgewertet mit den Faktoren „Hypo“ (dieser repräsentierte die Bedingung eu- bzw. hypoglykämischer Clampversuch) und „Laktat“ (dieser repräsentierte die Bedingung Laktat- bzw. Placeboinfusion) sowie dem Faktor „Zeit“ (für mehrere Messungen während eines Versuches). Wo es geeignet war, wurden die beiden euglykämischen und die beiden hypoglykämischen Versuchsbedingungen separat verglichen, wobei der jeweilige ANOVA-Faktor „Hypo“ ausgespart wurde. Für paarweise Vergleiche zwischen den Bedingungen zu einzelnen Zeitpunkten wurde der T-Test für gepaarte Stichproben verwendet. Ein p-Wert $0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Sigma Plot 9.0.

3. Ergebnisse

3.1 Blutglukose

Die Mittelwerte der Blutglukosekonzentrationen zeigten jeweils zwischen den beiden euglykämischen und den beiden hypoglykämischen Versuchsbedingungen gut vergleichbare Werte. Dies gilt sowohl für die Baseline-Phase mit dem Beginn der Laktat- bzw. Placeboinfusion, als auch für die Zeit des hypo- bzw. euglykämischen Clampversuches (Abb. 1).

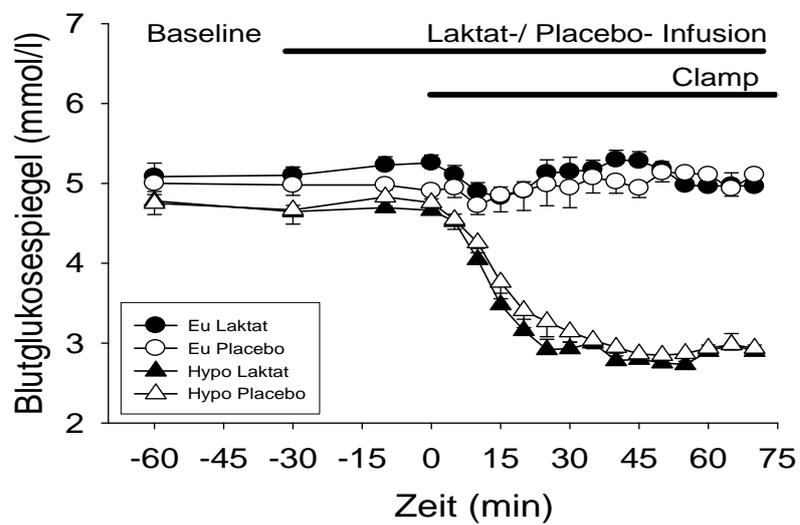


Abb.1: Verlauf der Blutglukosekonzentrationen während der Baseline-Phase und während des eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuches.

3.2 Laktat

Die durch die Laktatinfusion induzierten Mittelwerte der Laktatplasmakonzentrationen erreichten Werte von etwa 3,6 mmol/l unter beiden glykämischen Bedingungen. Dies waren deutlich höhere Werte verglichen mit den Versuchen bei Gabe der Placeboinfusion. Unter den Placebobedingungen lagen die Plasmalaktatwerte im Normbereich bei etwa 1 mmol/l (Abb. 2).

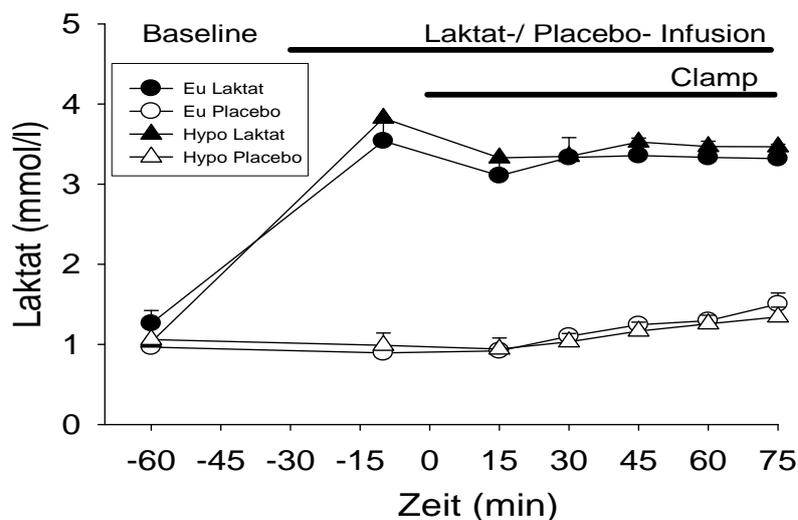


Abb. 2: Verlauf der Plasmakonzentrationen von Laktat während der Baseline-Phase und während des eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuches.

3.3 Glukoseinfusionsraten

Die Infusionsraten an Glukose, die zur Aufrechterhaltung der Zielwerte der Blutglukosekonzentration während der Clampversuche nötig waren, zeigten folgendes Verhalten:

Unter den beiden euglykämischen Versuchsbedingungen (euglykämischer Clampversuch/ Laktatinfusion bzw. euglykämischer Clampversuch/ Placeboinfusion) unterschieden sich die Infusionsraten nicht wesentlich. Entsprechend unterschieden sich auch die kumulativen Mengen an infundierter Glukose nicht (euglykämischer Clampversuch/ Laktatinfusion: $57 \pm$

8g bzw. euglykämischer Clampversuch/ Placeboinfusion: 53 ± 5 g; $p = 0,72$; Abb. 3).

Hingegen war während der hypoglykämischen Versuche die Glukoseinfusionsrate unter der Laktatinfusion signifikant größer als unter der Placeboinfusion. Entsprechend war unter der Laktat-Versuchsbedingung auch die kumulative Menge an zugeführter Glukose signifikant größer (hypoglykämischer Clampversuch/ Laktatinfusion 27 ± 3 g bzw. hypoglykämischer Clampversuch/ Placeboinfusion: 23 ± 2 g; $p = 0,012$; Abb. 3).

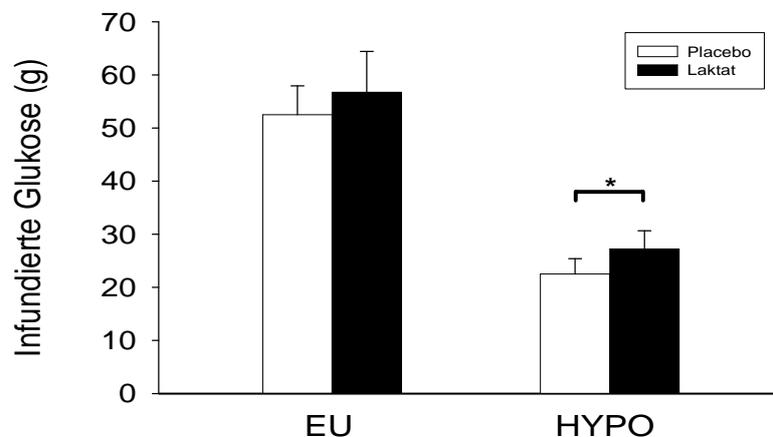


Abb. 3: Kumulative Menge an zugeführter Glukose unter den vier verschiedenen Versuchsbedingungen: Euglykämischer Clampversuch/ Placeboinfusion, Euglykämischer Clampversuch/ Laktatinfusion, Hypoglykämischer Clampversuch/ Placeboinfusion, Hypoglykämischer Clampversuch/ Laktatinfusion, * zeigt $p < 0,05$.

3.4 C-Peptid

Die Serumkonzentrationen von C-Peptid unterschieden sich während der Baseline-Phase unter den vier verschiedenen Versuchsbedingungen nicht signifikant ($p = 0,19$; Abb. 4).

Unter den beiden hypoglykämischen Versuchsbedingungen waren die Serumkonzentrationen von C-Peptid dann deutlich erniedrigt. Dagegen blieben sie während der beiden euglykämischen Clampversuche im Wesentlichen unverändert ($p = 0,014$ für den „Hypo“ x „Zeit“ Interaktionseffekt; Abb. 4).

Die Infusion von Laktat hatte insgesamt keinen Einfluss auf den Verlauf der Serumkonzentrationen von C-Peptid während der eu- und der hypoglykämischen Clampversuche ($p = 0,17$ für den „Hypo“ x „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt in ANOVA). Getrennte Analysen der euglykämischen und der hypoglykämischen Clampversuche bestätigten, dass die Infusion von Laktat die C-Peptid-Sekretion der β -Zellen weder unter euglykämischen noch unter hypoglykämischen Bedingungen beeinflusste (Euglykämischer Clampversuch $p = 0,28$ bzw. Hypoglykämischer Clampversuch $p = 0,60$ jeweils für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt in ANOVA).

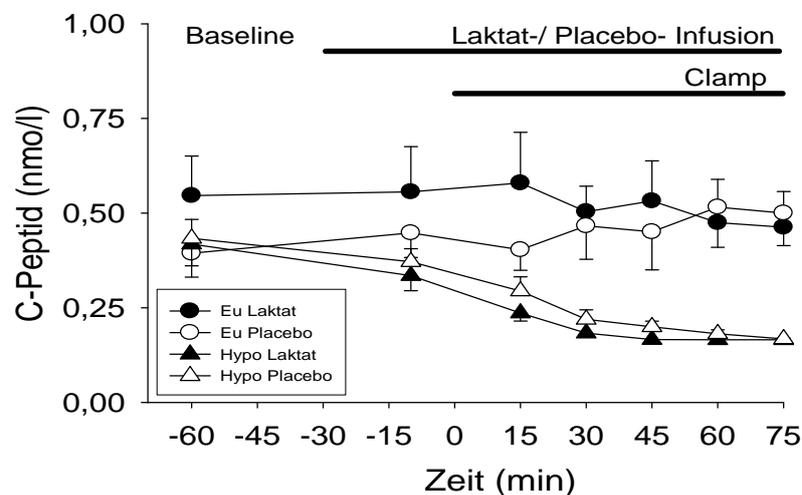


Abb. 4: Verlauf der Serumkonzentrationen von C-Peptid während der Baseline-Phase und während des eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuches.

3.5 Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation

Während der Baseline-Phase gab es unter den vier Versuchsbedingungen bei keinem der Hormone der Gegenregulation (Adrenalin, Somatotropin, Kortisol, Glukagon und Noradrenalin) wesentliche Unterschiede in den Plasma- bzw. Serumkonzentrationen ($p > 0,20$ für alle Vergleiche) (Abb. 5-9).

3.5.1 Adrenalin

Unter den hypoglykämischen Versuchsbedingungen kam es zu einem deutlichen Anstieg der Plasmakonzentrationen von Adrenalin ($p < 0,001$ für den „Hypo“ x „Zeit“ Interaktionseffekt in ANOVA; Abb. 5). Durch die Laktatinfusion jedoch wurde dieser Anstieg der Adrenalinplasmakonzentrationen während der hypoglykämischen Clampversuche deutlich reduziert ($p = 0,007$ für den „Hypo“ x „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt; Abb. 5 B). In getrennten Analysen der euglykämischen und hypoglykämischen Clampversuche zeigte sich, dass die Laktatinfusion den Anstieg der Plasmakonzentrationen von Adrenalin während der hypoglykämischen Clampversuche signifikant dämpfte ($p = 0,004$ für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt bei hypoglykämischem Clampversuch; Abb. 5 B). Hingegen hatte unter euglykämischen Bedingungen die Laktatinfusion keinen Einfluss auf die AdrenalinKonzentrationen im Plasma ($p = 0,31$ für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt bei euglykämischem Clampversuch; Abb. 5 A), diese blieben hier im Wesentlichen unverändert.

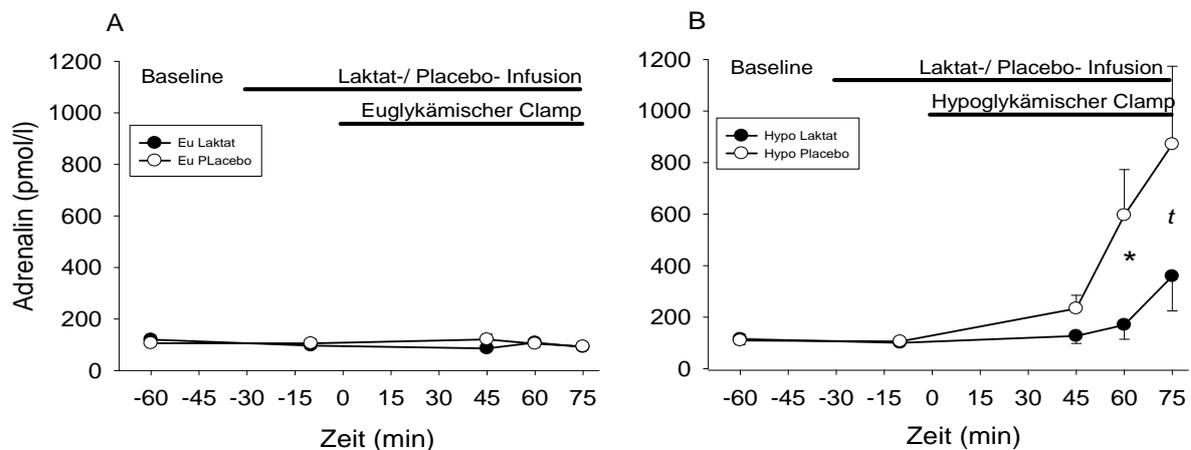


Abb. 5: Plasmakonzentrationen von Adrenalin während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B). * zeigt $p < 0,05$, t zeigt $p < 0,10$.

3.5.2 Somatotropin

Die Serumkonzentrationen von Somatotropin (Abb. 6) zeigten ein ähnliches Bild wie das der Plasmakonzentrationen von Adrenalin. Es kam zu einer erhöhten gegenregulatorischen Sekretion von Somatotropin als Antwort auf die Hypoglykämie. Diese verstärkte Ausschüttung von Somatotropin unter der Hypoglykämie wurde durch die Laktatinfusion deutlich vermindert ($p = 0,004$ für den „Hypo“ x „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt; Abb. 6 B). Getrennte Analysen der euglykämischen und der hypoglykämischen Clampversuche zeigten auch hier, dass die Laktatinfusion den Anstieg der Somatotropinkonzentrationen im Serum während der Hypoglykämie signifikant dämpfte ($p = 0,004$ für „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt bei hypoglykämischem Clampversuch).

Hingegen hatte die Infusion von Laktat während der euglykämischen Clampversuche keinen Einfluss auf die Serumkonzentrationen von Somatotropin, diese blieben unter euglykämischen Bedingungen im Wesentlichen unverändert ($p = 0,14$ für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt bei euglykämischem Clampversuch; Abb. 6 A).

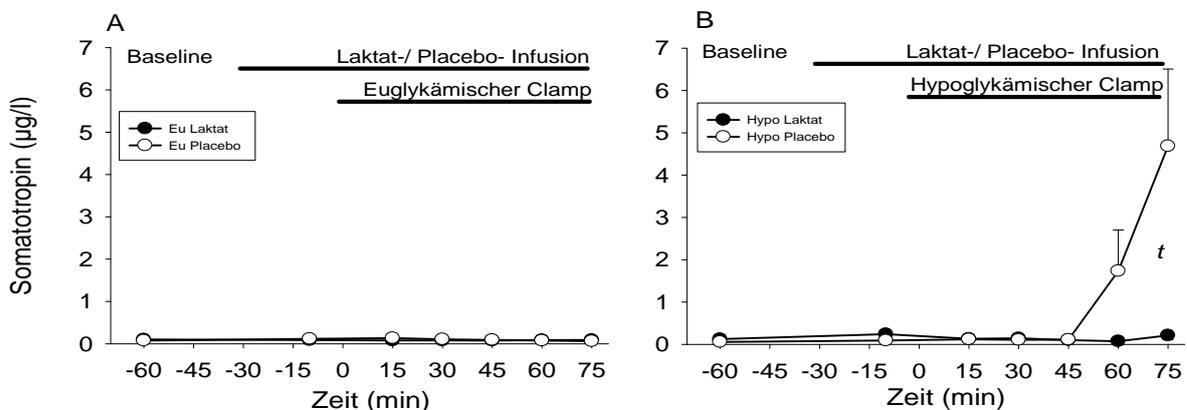


Abb. 6: Serumkonzentrationen von Somatotropin während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B), t zeigt $p < 0,10$.

3.5.3 Kortisol

Das Bild der zirkulierenden Serumkonzentrationen von Kortisol (Abb. 7) war ebenfalls vergleichbar mit dem der Plasma- bzw. Serumkonzentrationen von Adrenalin bzw. Somatotropin, auch wenn die statistische Analyse hier weniger klare Ergebnisse zeigte.

Die Serumkonzentrationen von Kortisol zeigten unter allen vier Versuchsbedingungen im Verlauf eine deutliche durch den zirkadianen Rhythmus bedingte Abnahme. Als Antwort auf die Hypoglykämie kam es dann im Verlauf zu einem Anstieg der Serumkortisolspiegel ($p = 0,041$ für den „Hypo“ x „Zeit“ Interaktionseffekt; Abb. 7 B). Die Analyse in ANOVA zeigte insgesamt einen signifikant supprimierenden Einfluss der Laktatinfusion auf die Serumkonzentrationen von Kortisol unabhängig von der glykämischen Bedingung ($p = 0,041$ für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt). Unter Einbeziehung des „Hypo“-Faktors zeigte sich kein Einfluss von Laktat auf die Serumkortisolspiegel ($p = 0,633$ für den „Hypo“ x „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt), d.h. der Hypoglykämie-bedingte Kortisolanstieg wurde durch die Laktatinfusion nicht abgeschwächt. Separate Analysen der euglykämischen und der hypoglykämischen Clampversuche haben die Signifikanz für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt ebenfalls nicht bestätigt (Euglykämischer Clampversuch/Laktatinfusion $p = 0,29$ bzw. Hypoglykämischer Clampversuch/Laktatinfusion $p = 0,18$; Abb. 7 A und B).

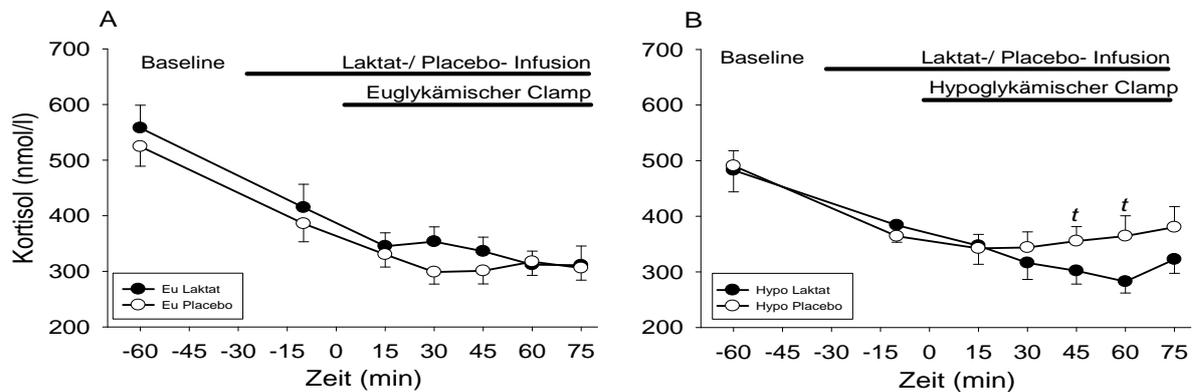


Abb. 7: Serumkonzentrationen von Kortisol während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B), t zeigt $p < 0,10$.

3.5.4 Glukagon

Das Bild der Serumkonzentrationen von Glukagon (Abb. 8) wies einen ähnlichen Verlauf auf wie das der Plasma- bzw. Serumkonzentrationen von Adrenalin bzw. Somatotropin, jedoch waren die Ergebnisse der statistischen Analyse hier weniger eindeutig.

Unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen kam es zu einem Anstieg der Plasmakonzentrationen von Glukagon. Dieser verfehlte jedoch knapp den Signifikanzbereich ($p = 0,08$ für den „Hypo“ x „Zeit“ Interaktionseffekt; Abb. 8 B), was auf die große Schwankungsbreite der Werte zurückzuführen sein könnte. Unter euglykämischen Bedingungen zeigten sich die Glukagonwerte unverändert (Abb. 8 A).

Die Laktatinfusion zeigte keinen signifikanten Einfluss auf die Plasmakonzentrationen von Glukagon ($p > 0,36$ für „Laktat“ als Haupteffekt, „Zeit“ x „Laktat“, und „Hypo“ x „Zeit“ x „Laktat“ - Interaktionsterme).

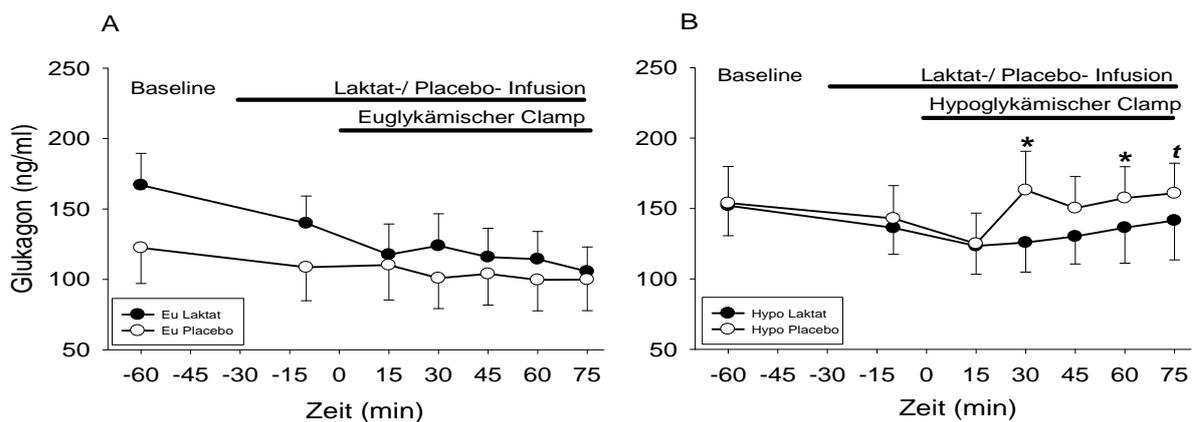


Abb. 8: Plasmakonzentrationen von Glukagon während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B), * zeigt $p < 0,05$, † zeigt $p < 0,10$.

3.5.5 Noradrenalin

Die Plasmakonzentrationen von Noradrenalin hingegen zeigte ein deutlich anderes Bild im Vergleich zu dem der Serum- bzw. Plasmakonzentrationen der anderen oben genannten Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation (Abb. 9).

Die Noradrenalin-Konzentrationen im Plasma stiegen an im Verlauf der Zeit ($p < 0,002$ für den Faktor „Zeit“). Dieser Anstieg der Noradrenalin-Konzentrationen wurde durch die Laktatinfusion reduziert ($p = 0,10$ für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt). Aber der Anstieg der Noradrenalin-Konzentrationen schien nicht wesentlich von der glykämischen Bedingung beeinflusst zu werden ($p = 0,30$ für den „Hypo“ x „Zeit“ Interaktionseffekt). Getrennte Analysen der euglykämischen und der hypoglykämischen Clampversuche zeigten Folgendes: Unter der euglykämischen Bedingung näherte sich die Abnahme der Plasmakonzentrationen von Noradrenalin, welche sich unter der Laktatinfusion zeigte, dem Signifikanzbereich ($p = 0,09$ für den „Zeit“ x „Laktat“ Interaktionseffekt; Abb. 9 A). Unter der hypoglykämischen Versuchsbedingung erreichte die Abnahme der Plasmakonzentrationen von Noradrenalin bei Gabe der Laktatinfusion den Signifikanzbereich ($p = 0,021$ für „Laktat“ als Haupteffekt; Abb. 9 B). Betrachtete man unter Ausschluss der Baseline-Phase nur die drei während des Clampversuches erhobenen Werte, bestätigte die Analyse in ANOVA eine signifikante Reduktion der Plasmakonzentrationen von Noradrenalin unter der Laktatinfusion unter beiden glykämischen Bedingungen ($p = 0,049$ für „Laktat“ als Haupteffekt). Die glykämische Bedingung hatte dabei keinen Einfluss auf den reduzierenden Effekt der Laktatinfusion auf die Plasmakonzentrationen von Noradrenalin ($p = 0,39$ für den „Hypo“ x „Laktat“ Interaktionseffekt).

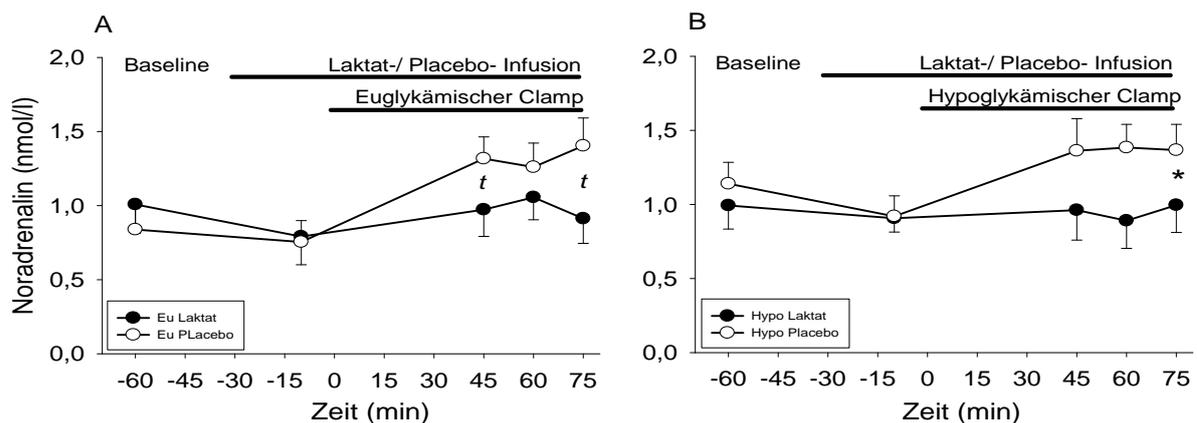


Abb. 9: Plasmakonzentrationen von Noradrenalin während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B), * zeigt $p < 0,05$, t zeigt $p < 0,10$.

4. Diskussion

4.1. Allgemeines

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss von Laktat auf die Glukosemessung der β -Zellen des Pankreas untersucht. Dazu wurden euglykämische und hypoglykämische Clampversuche bei gleichzeitiger Laktat- bzw. Placeboinfusion an gesunden männlichen Probanden durchgeführt. Reflektiert und gemessen wurden die Effekte durch die zirkulierenden Serumkonzentrationen von C-Peptid, welche die endogene Insulinsekretion der β -Zellen des Pankreas widerspiegeln.

Außerdem wurde der Einfluss von Laktat auf zentralnervöse Glukosesensoren untersucht, welche eine maßgebliche Funktion in der Regulation der neuroendokrinen hypoglykämischen Gegenregulation einnehmen. Neben dem schon bekannten Einfluss von Laktat auf die zentralnervöse Glukosemessung unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen wurden hier auch die Effekte unter euglykämischen Versuchsbedingungen untersucht. Die hypo- und euglykämischen Clampversuche bei gleichzeitiger Laktat- bzw. Placeboinfusion wurden an gesunden männlichen Probanden durchgeführt. Die Reaktion der zentralnervösen Glukosesensoren wurde reflektiert und gemessen durch die Sekretion der Hormone der hypoglykämischen Gegenregulation (Adrenalin, Noradrenalin, Somatotropin, Kortisol und Glukagon).

4.2. Einfluss von Laktat auf zentralnervöse Glukosesensoren unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen

Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass Laktat die neuroendokrine gegenregulatorische Antwort auf eine Hypoglykämie, die gesteigerte Sekretion der kontrainsulinären Hormone Adrenalin, Noradrenalin, Somatotropin, Kortisol und Glukagon, vermindert. Es konnten hier Ergebnisse anderer Studien (Maran et al., 1994, Veneman et al., 1994, King et al., 1997, Maran et al., 2000), die einen dämpfenden Effekt von Laktat auf die neuroendokrine hypoglykämische Gegenregulation aufzeigten, gut bestätigt werden.

Besonders deutlich zeigte sich der mildernde Einfluss von Laktat auf die hypoglykämisch gesteigerte Sekretion von Adrenalin und Somatotropin. Die Laktatinfusion zeigte ebenfalls einen supprimierenden Einfluss auf die Kortisolspiegel. Der Laktat-Effekt auf die Glukagonsekretion war weniger eindeutig. Hingegen wurde die Noradrenalinsekretion

unabhängig von der glykämischen Bedingung durch die Laktatgabe reduziert. Während der hypoglykämischen Clampversuche und gleichzeitiger Laktatinfusion waren außerdem höhere Glukoseinfusionsraten erforderlich, um die Glukoseblutkonzentrationen auf dem hypoglykämischen Zielwert aufrechtzuerhalten. Dies ist ebenfalls ein Hinweis auf eine allgemein reduzierte Aktivität der neuroendokrinen Gegenregulation bei gleichzeitiger Laktatgabe (Schmid et al., 2008).

In Übereinstimmung mit Ergebnissen anderer Studien (Maran et al., 1994, Veneman et al., 1994, King et al., 1997, Maran et al., 2000) deuten diese Ergebnisse darauf hin, dass Laktat mit den Glukosesensoren des ZNS interagiert (Tsacopoulos, 1996, Yang et al., 1999, Borg et al., 2003, Yang et al., 2004), welche die Freisetzung der Hormone der Hypoglykämie-Gegenregulation vermitteln (Borg et al., 1995, Borg et al., 1997). Denn die Unterdrückung der Hormonfreisetzung der neuroendokrinen hypoglykämischen Gegenregulation durch die Laktatinfusion resultiert am wahrscheinlichsten daraus, dass Laktat auf die zentralnervösen Glukosesensoren wirkt. Trotzdem kann es aber nicht ausgeschlossen werden, dass periphere Glukosesensoren wie jene im Glomus caroticum (Koyama et al., 2000), in der Vena Porta (Donovan, 2002, Matveyenko und Donovan, 2006) und im Darm (Liu et al., 1999) zu diesem Effekt beitragen. Bei Untersuchungen an Ratten (Matveyenko und Donovan, 2006) führten erhöhte Konzentrationen von Laktat in der Vena porta zu einer Verminderung der sympathoadrenalen Antwort auf eine hyperinsulinämische Hypoglykämie im Rahmen von Clampversuchen. Die Aktivierung des neuroendokrinen Gegenregulationssystems beruht jedoch primär auf hypothalamischen Mechanismen (Borg et al., 1995, Borg et al., 1997). Daher ist anzunehmen, dass das Laktat seinen supprimierenden Effekt auf die Hypoglykämie-Gegenregulation am wahrscheinlichsten auf zentralnervöser Ebene ausübt (Borg et al., 2003). Die Interaktion von Laktat mit den Glukosesensoren des zentralen Nervensystems zeigt, dass die Glukosesensoren relativ unspezifisch für Glukose sind (Yang et al., 1999, Levin, 2002, Levin et al., 2004, Yang et al., 2004). Sie scheinen vielmehr sensibel zu sein für eine breitere Auswahl an energiereichen Substraten, welche vom Gehirn auch als alternative Energieträger genutzt werden können (Magistretti et al., 1999, Smith et al., 2003, Kasischke et al., 2004, Pellerin und Magistretti, 2004, Bergensen, 2007, Schmid et al., 2008).

4.3. Einfluss von Laktat auf zentralnervöse Glukosesensoren unter euglykämischen Versuchsbedingungen

Die Laktatinfusion führte unabhängig von der glykämischen Bedingung zu einer Abschwächung des Anstiegs der Plasmakonzentrationen von Noradrenalin, welcher unter den euglykämischen und hypoglykämischen Placebo-Bedingungen beobachtet werden konnte. Die Abnahme der gesteigerten Noradrenalinsekretion unter der Laktatinfusion während der euglykämischen Versuche lag nahe dem Signifikanzbereich und war signifikant unter hypoglykämischer Bedingung. Bei alleiniger Betrachtung der Messwerte der Clampversuche unter Ausschluss der Baseline-Phase zeigte sich eine signifikante Laktat-bedingte Abnahme der NoradrenalinKonzentrationen unter beiden glykämischen Bedingungen. Erklären lässt sich der Anstieg der NoradrenalinKonzentrationen unter den beiden Placebo-Bedingungen am wahrscheinlichsten als Resultat des gut belegten stimulatorischen Effektes von Insulin auf das sympathische Nervensystem (Kern et al., 2005). Allerdings ist es durch das Fehlen einer Kontrollbedingung ohne einer Insulininfusion in dieser Studie nicht möglich, den genauen Mechanismus festzustellen, der hinter der verstärkten Noradrenalinsekretion steht (Schmid et al., 2008).

Die Sekretion von Adrenalin, Somatotropin und Glukagon zeigte sich unverändert und nicht gesteigert während der euglykämischen Clampversuche und durch die Laktatinfusion unbeeinflusst. Bei den Serumkonzentrationen von Kortisol zeigte sich eine durch den zirkadianen Rhythmus bedingte Abnahme. Die Laktatinfusion wirkte unabhängig von der glykämischen Bedingung insgesamt signifikant supprimierend auf die Kortisolspiegel. Allerdings war der supprimierende Laktateinfluss nicht signifikant bei einzelner Betrachtung der eu- bzw. hypoglykämischen Versuche.

Die reduzierte Noradrenalinsekretion unter der Laktatgabe könnte als möglicher Mechanismus für eine verbesserte Insulinsensitivität Bedeutung gewinnen. In der Studie von Ferrannini et al., 1993, zeigte sich, dass unter hyperinsulinämischen euglykämischen Clampversuchen und der Gabe einer Laktatinfusion die Glukoseinfusionsraten erhöht waren, die zur Aufrechterhaltung einer normalen Glukoseblutkonzentration nötig waren. Dies deutet darauf hin, dass Laktat die Insulinsensitivität erhöht. Eine verbesserte Insulinsensitivität könnte gut erklärt werden durch den dämpfenden Einfluss von Laktat auf die Aktivität des sympathischen Nervensystems, wie er hier durch die reduzierten NoradrenalinKonzentrationen unter der Gabe

von Laktat angedeutet wird. Allerdings muss beachtet werden, dass in der vorliegenden Arbeit die Glukoseinfusionsraten durch die Laktatinfusion unter den hypoglykämischen Clampversuchen signifikant erhöht wurden, dieser Effekt sich jedoch nicht unter den euglykämischen Clampversuchen zeigte (Schmid et al., 2008). Diese fehlende Bestätigung einer laktatinduzierten Insulinsensitivierung unter euglykämischen Versuchsbedingungen könnte erklärt sein durch die kürzere Dauer (75 min) der Clampversuche in der vorliegenden Studie im Vergleich zu vorangegangenen Studien (120 min) (Ferrannini et al., 1993, Schmid et al., 2008). Daher verlangt die Reduktion der NoradrenalinKonzentrationen, die unter der Gabe von Laktat beobachtet wurde und einen fördernden Effekt auf die Insulinsensitivität andeutet, nach weiteren Untersuchungen.

4.4 Einfluss von Laktat auf die β -Zellen unter hypoglykämischen Versuchsbedingungen

Im Gegensatz zu diesem deutlichen zentralnervösen Effekt von Laktat, veränderte die Laktatinfusion die Insulinsekretion, welche durch die C-Peptid Konzentrationen im Serum reflektiert und gemessen wurde, nicht. Die C-Peptid-Serumkonzentrationen blieben unter beiden glykämischen Versuchsbedingungen durch die Laktatinfusion unbeeinflusst und waren weder unter euglykämischen noch unter hypoglykämischen Bedingungen erhöht unter der Gabe von Laktat. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Laktat keinen Einfluss auf die Glukosemessung der β -Zellen des Pankreas hat. Unter den hypoglykämischen Versuchsbedingungen kam es zu einer deutlichen Abnahme der C-Peptid-Spiegel, was die supprimierte endogene Insulinsekretion unter der Hypoglykämie reflektiert.

In Studien konnte gezeigt werden, dass das akute Einsetzen auch einer nur milden Hypoglykämie mit Blutglukosespiegeln von etwa 3,6 mmol/l die endogene Insulinsekretion komplett blockt, reflektiert durch C-Peptid-Konzentrationen unter 0,03 nmol/l (Fruehwald-Schultes et al., 2000 b). Im Gegensatz dazu bleiben die C-Peptid-Konzentrationen deutlich höher (~0,40 nmol/l), wenn sich eine Hypoglykämie mit vergleichbaren Werten langsam entwickelt, wie es während anhaltendem Fasten geschieht (Merl et al., 2004). Diese sehr differenzierte Reaktion bzw. Anpassung der endogenen Insulinsekretion deutet darauf hin, dass die Unterdrückung der Insulinfreisetzung der β -Zellen eine sofortige Antwort ist, die stark abhängig ist von der zeitlichen Dynamik einer auftauchenden Hypoglykämie (Schmid et al., 2008).

In der oben erwähnten Arbeit (Merl et al., 2004) wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Abnahme der Glukoseblutkonzentration den β -Zellen über zentral vermitteltes neuronales und hormonelles Input signalisiert wird. Die hier vorliegenden Resultate jedoch unterstützen die Annahme einer engen Bindung zwischen zentralnervöser und β -zellulärer Glukosemessung nicht (Schmid et al., 2008). Die Ergebnisse befürworten eher die Ansicht, dass die β -zelluläre Antwort auf eine Hypoglykämie nicht ausschließlich von der zentralnervösen Glukosemessung abhängig ist (Borg et al., 1997). Demzufolge scheinen die β -Zellen selbst empfindlich auf die zeitliche Dynamik von abnehmenden Blutglukosekonzentrationen zu reagieren und die endogene Insulinsekretion an Situationen wie akut einsetzende Hypoglykämien oder Unterzuckerungen bei anhaltendem Fasten anzupassen (Schmid et al., 2008). Alternativ könnte ein vermeintlicher zentralnervöser Einfluss auf die β -zelluläre Insulinsekretion während einer Hypoglykämie über glukosemessende Neurone vermittelt sein, die unterschiedlich auf Laktat als auf Glukose reagieren (Song und Routh, 2005). In der Versuchsreihe einer Studie (Song und Routh, 2005) zeigten Glukose und Laktat gegensätzliche Effekte auf glukosesensitive (durch Glukose inhibierte) Neurone. Gleichzeitig zeigten die in dieser Studie (Song und Routh, 2005) ebenfalls untersuchten glukoseresponsiven (durch Glukose angeregte) Neurone die auch in vielen anderen Studien (Tsacopoulos, 1996, Yang et al., 1999, Yang et al., 2004) belegte gleichsinnige Reaktion auf Glukose und Laktat. Insgesamt ist jedoch anzunehmen, dass in der Regulation der β -zellulären Insulinsekretion der zentralnervöse Einfluss eher von untergeordneter Bedeutung ist.

4.5. Einfluss von Laktat auf die β -Zellen unter euglykämischen Versuchsbedingungen

Laktat hatte keinen Einfluss auf die C-Peptid-Spiegel und die endogene Insulinsekretion unter euglykämischen Versuchsbedingungen, was darauf hinweist, dass Laktat mit der Glukosemessung der β -Zellen nicht interagiert. Damit decken sich diese Ergebnisse unter Euglykämie mit vorausgegangenen Untersuchungen, die zeigten, dass Laktat die Insulinsekretion an isolierten menschlichen pankreatischen β -Zellen nicht stimuliert (Henquin et al., 2006). Auch an isolierten β -Zellen von Ratten beeinflusst Laktat die Insulin-Sekretion nur minimal (Meglasson et al., 1989). In-vivo Studien an menschlichen Probanden deckten ebenfalls keinen stimulierenden Effekt einer Laktatinfusion auf die Insulinsekretion auf (Ferrannini et al., 1993, Miller et al., 2002). Und auch die während körperlicher Anstrengung

erhöhten Laktat-Spiegel stimulierten die Insulinsekretion nicht (Miller et al., 2002).

Es sind jedoch Patienten beschrieben, bei denen die im Rahmen von körperlicher Anstrengung auftretenden erhöhten Laktatspiegel zu hyperinsulinämischen Hypoglykämien führen, die durch Störungen in der Regulation der Insulinsekretion verursacht werden (Otonkoski et al., 2003). Bei diesen Patienten mit dem sogenannten Syndrom des Exercise-induced hyperinsulinism (EIHI), welches autosomal dominant vererbt wird, scheinen die β -Zellen sensibel auf einen Laktatanstieg zu reagieren und Insulin freizusetzen (Otonkoski et al., 2003). Wichtiger Grund für die sonst übliche Nicht-Reaktion der β -Zelle auf Laktat könnte sein, dass sich in den β -Zellen des Pankreas eine sehr niedrige Expression an Plasmamembran-Monocarboxylase-Transportern (MCT) (Zhao et al., 2001, Rutter, 2004) und an intrazellulärer LDH (Sekine et al., 1994, Rutter, 2004) findet (Ishihara et al., 1999). Dies wird auch dadurch belegt, dass eine verstärkte Co-Expression von LDH-5 und MCT-1 in β -Zellen zu einer durch Laktat stimulierten Insulinsekretion führt (Ishihara et al., 1999). Die niedrige Expression von LDH und MCT in den β -Zellen scheint somit wichtig zu sein für die sehr spezifische Wirkung von Glukose auf die Insulinsekretion. Dadurch bleibt der Organismus während körperlicher Anstrengung oder anderer katabolischer Zustände vor einer hypoglykämischen Wirkung durch Laktat bewahrt.

Zusammenfassend zeigen die Daten also einen deutlichen Unterschied zwischen den Mechanismen der zentralnervösen und der β -zellulären Messung von Glukose auf.

Die Glukosemessung der β -Zellen blieb durch die Laktatinfusion unbeeinflusst und scheint hoch spezialisiert auf die Messung von Glukose zu sein. Im Gegensatz dazu zeigte die Glukosemessung des zentralen Nervensystems eine klare Reaktion auf diesen alternativen Energieträger und reflektiert damit die Fähigkeit des Gehirns sich auf Laktat als einen bedeutenden alternativen Energieträger zu verlassen.

4.6 Methodische Einschränkungen

Im Vergleich zu anderen ähnlichen Studien war in der Versuchsanordnung der vorliegenden Arbeit die Zeitdauer für die eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuche kürzer gewählt (75 min in der vorliegenden Arbeit, im Vergleich dazu: Ferrannini et al., 1993 (120 min), Maran et al., 1994 (135 min), Maran et al., 2000 (110 min), Veneman et al., 1994 (300 min)). Es ist möglich, dass die kürzere Dauer der Clampversuche Einfluss auf die Ergebnisse gehabt hat, z.B. bezüglich der fehlenden Bestätigung einer Insulinsensitivierung durch Laktat unter euglykämischer Versuchsbedingung.

Unter Placebobedingungen kam es unter den eu- und hypoglykämischen Versuchen zu einem Anstieg der NoradrenalinKonzentrationen, was am ehesten auf den stimulatorischen Effekt von Insulin auf das sympathische Nervensystem zurückzuführen ist (Kern et al., 2005). Durch eine fehlende Kontrollbedingung ohne die Gabe einer Insulininfusion konnten die Mechanismen, die diesen Noradrenalinanstieg bewirkten, jedoch in dieser Studie nicht genau festgestellt werden.

Zuletzt ist die relativ kleine Fallzahl der untersuchten Probanden zu nennen, welche die statistische Power bezüglich der Detektion geringgradiger Effekte limitiert hat.

4.7 Ausblick

In dieser Studie konnten neue Erkenntnisse gewonnen werden über die Wirkung des alternativen Energieträgers Laktat auf die zentralnervöse und β -zelluläre Glukosemessung. Die Erforschung der Mechanismen der Regulation des Blutzuckerspiegels und deren Beeinflussbarkeit sind von elementarer Bedeutung für das Verständnis und die Therapie der Erkrankung des Diabetes mellitus. Besonders wichtig ist dies vor dem Hintergrund einer steigenden Prävalenz dieser Erkrankung.

In der vorliegenden Arbeit wurden deutliche Unterschiede in den Mechanismen der zentralnervösen und der β -zellulären Glukosemessung sichtbar. Ob und wie diese Unterschiede in der zentralnervösen und β -zellulären Glukosemessung z.B. auch für therapeutische Zwecke ausgenutzt werden können, um mit Substanzen analog zu Laktat zentralnervöse aber nicht β -zelluläre Glukosesensoren zu beeinflussen, könnte ein attraktiver Gegenstand zukünftiger Forschung sein.

5. Zusammenfassung

Laktat ist ein alternativer Energieträger für das zentrale Nervensystem, welcher mit hypothalamischen Glukosesensoren interagiert. Glukosesensoren im Hypothalamus spielen eine bedeutende Rolle in der Regulation der Energiehomöostase des Organismus sowohl in Bezug auf neuroendokrine Funktionen als auch auf die Nahrungsaufnahme. Vor dem Hintergrund einer großen Ähnlichkeit zwischen zentralnervösen und β -zellulären pankreatischen Glukosesensoren wurde in dieser Studie in-vivo bei zehn gesunden Männern untersucht, ob Laktat auch mit den β -zellulären pankreatischen glukosemessenden Mechanismen interagiert. Hierzu wurden die Effekte einer intravenös infundierten Laktatlösung (versus einer Placebo-Kochsalzlösung) auf die zentralnervöse und die β -zelluläre pankreatische Glukosemessung während euglykämischer und hypoglykämischer Clampversuche erfasst. Die Freisetzung der gegenregulatorischen Hormone (Adrenalin, Noradrenalin, Somatotropin, Kortisol und Glukagon) als Antwort auf die Hypoglykämie spiegelte die zentralnervöse Glukosemessung wider. Die endogene Insulinsekretion wurde durch die C-Peptid Konzentrationen erfasst, welche als Indikator für die pankreatische β -zelluläre Glukosemessung diente.

Wie erwartet dämpfte die Laktatinfusion die gegenregulatorische hormonelle Antwort auf die Hypoglykämie, insbesondere die Freisetzung von Adrenalin ($p = 0,007$) und von Somatotropin ($p = 0,004$), so dass höhere Glukoseinfusionsraten ($p = 0,012$) nötig waren, um die Zielwerte der Blutglukosekonzentration während der Hypoglykämie aufrechtzuerhalten. Im Gegensatz dazu blieb die Abnahme der C-Peptidkonzentrationen während der hypoglykämischen Clampversuche gänzlich unbeeinflusst durch die Laktatinfusion ($p = 0,60$). Unter den euglykämischen Clampbedingungen hatte die Laktatinfusion weder auf die zirkulierenden Konzentrationen von C-Peptid noch auf die Hormone der Gegenregulation einen Einfluss. Ausgenommen davon waren die Konzentrationen von Noradrenalin, die unter der Infusion von Laktat niedriger waren als unter der Placeboinfusion ($p = 0,049$). Dieser Effekt war unabhängig von der glykämischen Bedingung, d.h. er trat bei Eu- und bei Hypoglykämie auf. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Glukosemessung der β -Zellen spezifisch für Glukose ist und von Laktat unbeeinflusst bleibt. Dagegen wird die Glukosemessung auf zentralnervöser Ebene von Laktat deutlich beeinflusst. Dies reflektiert die Fähigkeit des Gehirns, auch auf Laktat als eine bedeutende Energiequelle zuzugreifen.

6. Literaturverzeichnis

Abi-Saab WM, Maggs DG, Jones T, Jacob R, Srihari V, Thompson J, Kerr D, Leone P, Krystal JH, Spencer DD, During MJ, Sherwin RS. Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human subjects: effects of hyperglycemia and hypoglycemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 22:271-9, 2002

ACCORD Study Group (Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study Group), Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, Goff DC Jr, Bigger JT, Buse JB, Cushman WC, Genuth S, Ismail-Beigi F, Grimm RH Jr, Probstfield JL, Simons-Morton DG, Friedewald WT. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 358:2545-59, 2008

ADVANCE Collaborative Group (Action in Diabetes and Vascular Disease: preterAx and diamicroN modified release Controlled Evaluation Collaborative Group), Patel A, MacMahon S, Chalmers J, Neal B, Billot L, Woodward M, Marre M, Cooper M, Glasziou P, Grobbee D, Hamet P, Harrap S, Heller S, Liu L, Mancia G, Mogensen CE, Pan C, Poulter N, Rodgers A, Williams B, Bompoint S, de Galan BE, Joshi R, Travert F. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 358:2560-72, 2008

Ainscow EK, Zhao C, Rutter GA. Acute overexpression of lactate dehydrogenase-A perturbs beta-cell mitochondrial metabolism and insulin secretion. *Diabetes.* 49:1149-55, 2000

Amiel SA. Hypoglycaemia unawareness: a reversible problem? *Diabet Med.* 1:11-4, 2001

Amiel SA, Tamborlane WV, Simonson DC, Sherwin RS. Defective glucose counterregulation after strict glycemic control of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J. Med.* 316:1376-83. 1987

Ashford ML, Boden PR, Treherne JM. Glucose-induced excitation of hypothalamic neurons is mediated by ATP-sensitive K⁺ channels. *Pflugers Arch.* 415:479-483, 1990

Bergensen LH. Is lactate food for neurons? Comparison of monocarboxylate transporter subtypes in brain and muscle. *Neuroscience.* 145:11-9, 2007

Bittar PG, Charnay Y, Pellerin L, Bouras C, Magistretti PJ. Selective distribution of lactate dehydrogenase isoenzymes in neurons and astrocytes of human brain. *J Cereb Blood Flow Metab.* 16:1079-89, 1996

Bolli G, de Feo P, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusano F, Brunetti P, Gerich JE. Abnormal glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus. Interaction of anti-insulin antibodies and impaired glucagon and epinephrine secretion. *Diabetes.* 32:134-41, 1983

Borg MA, Sherwin RS, Borg WP, Tamborlane WV, Shulman GI. Local ventromedial hypothalamus glucose perfusion blocks counterregulation during systemic hypoglycemia in awake rats. *J Clin Invest.* 99:361-365, 1997

Borg MA, Tamborlane WV, Shulman GI, Sherwin RS. Local lactate perfusion of the ventromedial hypothalamus suppresses hypoglycemic counterregulation. *Diabetes.* 52:663-666, 2003

Borg WP, Sherwin RS, During MJ, Borg MA, Shulman GI. Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release. *Diabetes.* 44:180-184, 1995

Bouzier-Sore AK, Voisin P, Canioni P, Magistretti PJ, Pellerin L. Lactate is a preferential oxidative energy substrate over glucose for neurons in culture. *J Cereb Blood Flow Metab.* 23:1298-306, 2003

Cahn RD, Zwilling E, Kaplan NO, Levine L. Nature and Development of Lactic Dehydrogenases: The two major types of this enzyme form molecular hybrids which change in makeup during development. *Science.* 136:962-969, 1962

Chèvre JC, Hani EH, Boutin P, Vaxillaire M, Blanché H, Vionnet N, Pardini VC, Timsit J, Larger E, Charpentier G, Beckers D, Maes M, Bellanné-Chantelot C, Velho G, Froguel P. Mutation screening in 18 Caucasian families suggest the existence of other MODY genes. *Diabetologia.* 41:1017-23, 1998

Chih CP, Lipton P, Roberts EL Jr. Do active cerebral neurons really use lactate rather than glucose? *Trends Neurosci.* 24:573-8, 2001

Chih CP, Roberts Jr EL. Energy substrates for neurons during neural activity: a critical review of the astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis. *J Cereb Blood Flow Metab.* 23:1263-81, 2003

Claret M, Smith MA, Batterham RL, Selman C, Choudhury AI, Fryer LG, Clements M, Al-Qassab H, Heffron H, Xu AW, Speakman JR, Barsh GS, Viollet B, Vaulont S, Ashford ML, Carling D, Withers DJ. AMPK is essential for energy homeostasis regulation and glucose sensing by POMC and AgRP neurons. *J Clin Invest.* 117:2089-92, 2007

Cook DL, Hales CN. Intracellular ATP directly blocks K⁺ channels in pancreatic B-cells. *Nature.* 311:271-3, 1984

Coyle EF, Coggan AR, Hemmert MK, Ivy JL. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol.* 61:165-72, 1986

Cryer PE. Glucose counterregulation: prevention and correction of hypoglycemia in humans. *Am J Physiol.* 264:E149-55, 1993

Cryer PE, Davis SN, Shamoon H. Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care.* 26:1902-12, 2003

Dagogo-Jack SE, Craft S, Cryer PE. Hypoglycemia-associated autonomic failure in insulin-dependent diabetes mellitus. Recent antecedent hypoglycemia reduces autonomic responses to, symptoms of, and defense against subsequent hypoglycemia. *J Clin Invest.* 91:819-28, 1993

DCCT Research Goup: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med.* 329:977-86, 1993

DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol.* 237:E214-23, 1979

Donovan CM. Portal vein glucose sensing. *Diabetes Nutr Metab.* 15:308-312, 2002

Dunn-Meynell AA, Routh VH, Kang L, Gaspers L, Levin BE. Glucokinase is the likely mediator of glucosensing in both glucose-excited and glucose-inhibited central neurons. *Diabetes.* 51:2056-65, 2002

English P, Williams G. Hyperglycaemic crises and lactic acidosis in diabetes mellitus. *Postgrad Med J.* 80:253-61, 2004

Erlichman JS, Hewitt A, Damon TL, Hart M, Kurasz J, Li A, Leiter JC. Inhibition of monocarboxylate transporter 2 in the retrotrapezoid nucleus in rats: a test of the astrocyte-neuron lactate-shuttle hypothesis. *J Neurosci.* 28:4888-96, 2008

Evans ML, McCrimmon RJ, Flanagan DE, et al. Hypothalamic ATP-sensitive K⁺ channels play a role in sensing hypoglycemia and triggering counterregulatory epinephrine and glucagon responses. *Diabetes.* 53:2542-2551, 2004

Evans ML, Pernet A, Lomas J, Jones J, Amiel SA. Delay in onset of awareness of acute hypoglycemia and of restoration of cognitive performance during recovery. *Diabetes Care.* 23:893-7, 2000

Felig P, Cherif A, Minagawa A, Wahren J. Hypoglycemia during prolonged exercise in normal men. *N Engl J Med.* 306:895-900, 1982

Ferrannini E, Natali A, Brandi LS, Bonadonna R, De Kreutzberg SV, DelPrato S, Santoro D. Metabolic and thermogenic effects of lactate infusion in humans. *Am J Physiol.* 265:E504-E512, 1993

Fruehwald-Schultes B, Born J, Kern W, Peters A, Fehm HL. Adaptation of cognitive function to hypoglycemia in healthy men. *Diabetes Care.* 23:1059-66, 2000 a

Fruehwald-Schultes B, Kern W, Born J, Fehm HL, Peters A. Comparison of the inhibitory effect of insulin and hypoglycemia on insulin secretion in humans. *Metabolism*. 49:950-953, 2000 b

Fruehwald-Schultes B, Kern W, Deininger E, Wellhoener P, Kerner W, Born J, Fehm HL, Peters A. Protective effect of insulin against hypoglycemia-associated counterregulatory failure. *J Clin Endocrinol Metab*. 84:1551-7, 1999

Gerich J, Cryer P, Rizza R. Hormonal mechanisms in acute glucose counterregulation: the relative roles of glucagon, epinephrine, norepinephrine, growth hormone, and cortisol. *Metabolism*. 29:1164-75, 1980

Gerich JE, Mookan M, Veneman T, Korytkowski M, Mitrakou A. Hypoglycemia unawareness. *Endocr Rev*. 4:356-71, 1991

Hardie DG, Hawley SA, Scott JW. AMP-activated protein kinase-development of the energy sensor concept. *J Physiol*. 574:7-15, 2006

Hedekov CJ. Mechanism of glucose-induced insulin secretion. *Physiol Rev*. 60:442-509, 1980

Henquin JC, Dufrane D, Nenquin M. Nutrient control of insulin secretion in isolated normal human islets. *Diabetes* 55:3470-3477, 2006

Hillier TA, Pedula KL. Characteristics of an adult population with newly diagnosed type 2 diabetes: the relation of obesity and age of onset. *Diabetes Care*. 24:1522-7, 2001

Hiriart M, Aguilar-Bryan L. Channel regulation of glucose sensing in the pancreatic beta-cell. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 295:E1298-306, 2008

Houmard JA, Tanner CJ, Yu C, Cunningham PG, Pories WJ, MacDonald KG, Shulman GI. Effect of weight loss on insulin sensitivity and intramuscular long-chain fatty acyl-CoAs in morbidly obese subjects. *Diabetes*. 51:2959-63, 2002

Iynedjian PB. Mammalian glucokinase and its gene. *Biochem J.* 293:1-13, 1993

Ishihara H, Wang H, Drewes LR, Wollheim CB. Overexpression of monocarboxylate transporter and lactate dehydrogenase alters insulin secretory response to pyruvate and lactate in beta cells. *J Clin Invest.* 104:1621-1629, 1999

Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab.* 1:15-25. 2005

Kang L, Dunn-Meynell AA, Routh VH, Gaspers LD, Nagata Y, Nishimura T, Eiki J, Zhang BB, Levin BE. Glucokinase is a critical regulator of ventromedial hypothalamic neuronal glucosensing. *Diabetes* 55:412-20, 2006 Erratum in: *Diabetes.* 55:862, 2006.

Kang L, Routh VH, Kuzhikandathil EV, Gaspers LD, Levin BE. Physiological and molecular characteristics of rat hypothalamic ventromedial nucleus glucosensing neurons. *Diabetes.* 53:549-59, 2004

Kasischke KA, Vishwasrao HD, Fisher PJ, Zipfel WR, Webb WW. Neural activity triggers neuronal oxidative metabolism followed by astrocytic glycolysis. *Science.* 305:99-103, 2004

Kern W, Peters A, Born J, Fehm HL, Schultes B. Changes in blood pressure and plasma catecholamine levels during prolonged hyperinsulinemia. *Metabolism.* 54:391-396, 2005

Kerner W, Brückel J, Böhm BO. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. Evidenzbasierte Leitlinie der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG). Scherbaum WA, Kiess W (Hrsg.) Deutsche Diabetes-Gesellschaft 2004.

King P, Kong MF, Parkin H, MacDonald IA, Barber C, Tattersall RB. Intravenous lactate prevents cerebral dysfunction during hypoglycaemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Sci (Lond).* 94:157-63, 1998

King P, Parkin H, Macdonald IA, Barber C, Tattersall RB. The effect of intravenous lactate on cerebral function during hypoglycaemia. *Diabet Med.* 14:19-28, 1997

Knudsen GM, Paulson OB, Hertz MM. Kinetic analysis of the human blood-brain barrier transport of lactate and its influence by hypercapnia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 11:581-6, 1991

Koyama Y, Coker RH, Stone EE, Lacy DB, Jabbour K, Williams PE, Wasserman DH. Evidence that carotid bodies play an important role in glucoregulation in vivo. *Diabetes.* 49:1434-1442, 2000

Lalau JD. Lactic acidosis induced by metformin: incidence, management and prevention. *Drug Saf.* 33:727-40, 2010

Lam TK, Gutierrez-Juarez R, Pocai A, Rossetti L. Regulation of blood glucose by hypothalamic pyruvate metabolism. *Science.* 309:943-947, 2005

Lazar MA. How obesity causes diabetes: not a tall tale. *Science.* 307:373-5, 2005

Levin BE. Metabolic sensors: viewing glucosensing neurons from a broader perspective. *Physiol Behav.* 76:397-401, 2002

Levin BE. Neuronal glucose sensing: still a physiological orphan? *Cell Metab.* 6:252-4, 2007

Levin BE, Dunn-Meynell AA, Routh VH. Brain glucose sensing and body energy homeostasis: role in obesity and diabetes. *Am J Physiol.* 276:R1223-31, 1999

Levin BE, Routh VH, Kang L, Sanders NM, Dunn-Meynell AA. Neuronal glukosensing: what do we know after 50 Years? *Diabetes.* 53:2521-2528, 2004

Liu D, Moberg E, Kollind M, Lins PE, Adamson U, Macdonald IA. Arterial, arterialized venous, venous and capillary blood glucose measurements in normal man during hyperinsulinaemic euglycaemia and hypoglycaemia. *Diabetologia* 35:287-90, 1992

Magistretti PJ, Pellerin L. Metabolic coupling during activation. A cellular view. *Adv Exp Med Biol.* 413:161-6, 1997

Magistretti PJ, Pellerin L, Rothman DL, Shulman RG. Energy on demand. *Science.* 283:496-7, 1999

Maran A, Cranston I, Lomas J, et al. Protection by lactate of cerebral function during hypoglycemia. *Lancet.* 343:16-20, 1994

Maran A, Crepaldi C, Trupiani S, Lucca T, Jori E, Macdonald IA, Tiengo A, Avogaro A, Del Prato S. Brain function rescue effect of lactate following hypoglycaemia is not an adaptation process in both normal and type I diabetic subjects. *Diabetologia.* 43:733-741, 2000

Matschinsky F, Liang Y, Kesavan P, Wang L, Froguel P, Velho G, Cohen D, Permutt MA, Tanizawa Y, Jetton TL, et al. Glucokinase as pancreatic beta cell glucose sensor and diabetes gene. Review. *J Clin Invest.* 92:2092-8, 1993

Matveyenko AV, Donovan CM. Metabolic sensors mediate hypoglycemic detection at the portal vein. *Diabetes.* 55:1276-1282, 2006

Meglasson MD, Matschinsky FM. Pancreatic islet glucose metabolism and regulation of insulin secretion. *Diabetes Metab Rev.* 2:163-214, 1986

Meglasson MD, Nelson J, Nelson D, Erecinska M. Bioenergetic response of pancreatic islets to stimulation by fuel molecules. *Metabolism.* 38:1188-95, 1989

Merl V, Peters A, Oltmanns KM, Kern W, Hubold C, Hallschmid M, Born J, Fehm HL, Schultes B. Preserved circadian rhythm of serum insulin concentration at low plasma glucose during fasting in lean and overweight humans. *Metabolism*. 53:1449-1453, 2004

Meyer C, Saar P, Soydan N, Eckhard M, Bretzel RG, Gerich J, Linn T. A potential important role of skeletal muscle in human counterregulation of hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 90:6244-50, 2005

Miki T, Liss B, Minami K, Shiuchi T, Saraya A, Kashima Y, Horiuchi M, Ashcroft F, Minokoshi Y, Roeper J, Seino S. ATP-sensitive K⁺ channels in the hypothalamus are essential for the maintenance of glucose homeostasis. *Nat Neurosci*. 4:507-512, 2001

Miller BF, Fattor JA, Jacobs KA, Horning MA, Navazio F, Lindinger MI, Brooks GA. Lactate and glucose interactions during rest and exercise in men: effect of exogenous lactate infusion. *J Physiol*. 544:963-975, 2002

Minokoshi Y, Alquier T, Furukawa N, Kim YB, Lee A, Xue B, Mu J, Fougère F, Ferré P, Birnbaum MJ, Stuck BJ, Kahn BB. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. *Nature*. 428:569-74, 2004

Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mookan M, Jenssen T, Kiss I, Durrant J, Cryer P, Gerich J. Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. *Am J Physiol*. 260:67-74, 1991

Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, Wajsborg E, Mandarino LJ, DeFronzo RA. Abdominal fat distribution and peripheral and hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 283:1135-43, 2002

Newgard CB, McGarry JD. Metabolic coupling factors in pancreatic beta-cell signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 64:689-719, 1995

Otonkoski T; Kaminen N, Ustinov J, Lapatto R, Meissner T, Mayatepek E, Kere J, Sipilä I. Physical exercise-induced hyperinsulinemic hypoglycemia is an autosomal-dominant trait characterized by abnormal pyruvate-induced insulin release. *Diabetes*. 52:199-204, 2003

Paramore DS, Fanelli CG, Shah SD, Cryer PE. Hypoglycemia per se stimulates sympathetic neural as well as adrenomedullary activity, but, unlike the adrenomedullary response, the forearm sympathetic neural response is not reduced after recent hypoglycemia. *Diabetes*. 48:1429-36, 1999

Parton LE, Ye CP, Coppari R, Enriori PJ, Choi B, Zhang CY, Xu C, Vianna CR, Balthasar N, Lee CE, Elmquist JK, Cowley MA, Lowell BB. Glucose sensing by POMC neurons regulates glucose homeostasis and is impaired in obesity. *Nature*. 449:228-32, 2007

Payne JR. Clinically severe lactic acidosis with coma. *Calif Med*. 105:281-4, 1966

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*. 91:10625-9, 1994

Pellerin L, Magistretti PJ. Neuroscience. Let there be (NADH) light. *Science*. 305:50-2, 2004

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*. 28:143-180, 2004

Pierre K, Pellerin L. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *J Neurochem*. 94:1-14, 2005

Poitout V, Robertson RP. Minireview: Secondary beta-cell failure in type 2 diabetes-a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. *Endocrinology*. 143:339-42, 2002

Popp DA, Shah SD, Cryer PE. Role of epinephrine-mediated beta-adrenergic mechanisms in hypoglycemic glucose counterregulation and posthypoglycemic hyperglycemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest.* 69:315-26, 1982

Price NT, Jackson VN, Halestrap AP. Cloning and sequencing of four new mammalian monocarboxylate transporter (MCT) homologues confirms the existence of a transporter family with an ancient past. *Biochem J.* 329:321-8, 1998

Rorsman P, Eliasson L, Renström E, Gromada J, Barg S, Göpel S. The Cell Physiology of Biphasic Insulin Secretion. *News Physiol Sci.* 15:72-77, 2000

Routh VH. Glucose-sensing neurons: are they physiologically relevant? *Physiol Behav.* 76:403-13, 2002

Rutter GA. Visualising insulin secretion. The Minkowski Lecture 2004. *Diabetologia.* 47:1861-1872, 2004

Salt IP, Johnson G, Ashcroft SJ, Hardie DG. AMP-activated protein kinase is activated by low glucose in cell lines derived from pancreatic beta cells, and may regulate insulin release. *Biochem J.* 335:533-9, 1998

Schmid SM, Jauch-Chara K, Hallschmid M, Oltmanns KM, Peters A, Born J, Schultes B. Lactate overrides central nervous but not beta-cell glucose sensing in humans. *Metabolism.* 57:1733-9, 2008

Schuit F, De Vos A, Farfari S, Moens K, Pipeleers D, Brun T, Prentki M. Metabolic fate of glucose in purified islet cells. Glucose-regulated anaplerosis in beta cells. *J Biol Chem.* 272:18572-9, 1997

Schultes B, Kern W, Oltmanns K, Peters A, Gais S, Fehm HL, Born J. Differential adaptation of neurocognitive brain functions to recurrent hypoglycemia in healthy men. *Psychoneuroendocrinology.* 30:149-61, 2005 a

Schultes B, Oltmanns KM, Kern W, Fehm HL, Born J, Peters A. Modulation of hunger by plasma glucose and metformin. *J Clin Endocrinol Metab.* 88:1133-41, 2003

Schultes B, Peters A, Kern W, Gais S, Oltmanns KM, Fehm HL, Born J. Processing of food stimuli is selectively enhanced during insulin-induced hypoglycemia in healthy men. *Psychoneuroendocrinology.* 5:496-504. 2005 b

Schwartz NS, Clutter WE, Shah SD, Cryer PE. Glycemic thresholds for activation of glucose counterregulatory systems are higher than the threshold for symptoms. *J Clin Invest.* 79:777-81, 1987

Segel SA, Paramore DS, Cryer PE. Hypoglycemia-associated autonomic failure in advanced type 2 diabetes. *Diabetes.* 51:724-33, 2002

Sekine N, Cirulli V, Regazzi R, Brown LJ, Gine E, Tamarit-Rodriguez J, Girotti M, Marie S, MacDonald MJ, Wollheim CB, Rutter GA. Low lactate dehydrogenase and high mitochondrial glycerol phosphate dehydrogenase in pancreatic beta-cells. Potential role in nutrient sensing. *J Biol Chem.* 269:4895-4902, 1994

Shaw RJ, Lamia KA, Vasquez D, Koo SH, Bardeesy N, Depinho RA, Montminy M, Cantley LC. The kinase LKB1 mediates glucose homeostasis in liver and therapeutic effects of metformin. *Science.* 310:1642-6, 2005

Smith D, Pernet A, Hallett WA, Bingham E, Marsden PK, Amiel SA. Lactate: a preferred fuel for human brain metabolism in vivo. *J Cereb Blood Flow Metab.* 23:658-664, 2003

Song Z, Routh VH. Differential effects of glucose and lactate on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes.* 54:15-22, 2005

Stanley WC, Gertz EW, Wisneski JA, Morris DL, Neese RA, Brooks GA. Systemic lactate kinetics during graded exercise in man. *Am J Physiol.* 249:E595-602, 1985

Strachan MW, Deary IJ, Ewing FM, Ferguson SS, Young MJ, Frier BM. Acute hypoglycemia impairs the functioning of the central but not peripheral nervous system. *Physiol Behav.* 72:83-92, 2001

Stryer L, Biochemistry, New York, WH Freeman and Company, Seite 444–445, 1988

Thorens B, Sarkar HK, Kaback HR, Lodish HF. Cloning and functional expression in bacteria of a novel glucose transporter present in liver, intestine, kidney, and beta-pancreatic islet cells. *Cell.* 55:281-90, 1988

Tildon JT, McKenna MC, Stevenson J, Couto R. Transport of L-lactate by cultured rat brain astrocytes. *Neurochem Res.* 18:177-84, 1993

Tsuboi T, da Silva Xavier G, Leclerc I, Rutter GA. 5'-AMP-activated protein kinase controls insulin-containing secretory vesicle dynamics. *J Biol Chem.* 278:52042-51, 2003

Tuomilehto J, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *N Engl J Med.* 344:1343-50, 2001

Tsacopoulos M, Magistretti PJ. Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci.* 16:877-885, 1996

UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet.* 352:837-53, 1998

Velho G, Blanché H, Vaxillaire M, Bellanné-Chantelot C, Pardini VC, Timsit J, Passa P, Deschamps I, Robert JJ, Weber IT, Marotta D, Pilkis SJ, Lipkind GM, Bell GI, Froguel P. Identification of 14 new glucokinase mutations and description of the clinical profile of 42 MODY-2 families. *Diabetologia.* 40:217-24, 1997

Veneman T, Mitrakou A, Mookan M, Cryer P, Gerich J. Effect of hyperketonemia and hyperlacticacidemia on symptoms, cognitive dysfunction and counterregulatory hormone responses during hypoglycemia in normal humans. *Diabetes*. 43:1311-1317, 1994

Veneman T, Mitrakou A, Mookan M, Cryer P, Gerich J. Induction of hypoglycemia unawareness by asymptomatic nocturnal hypoglycemia. *Diabetes*. 42:1233-7, 1993

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 27:1047-53, 2004

Yang XJ, Kow LM, Funabashi T, Mobbs CV. Hypothalamic glucose sensor: similarities to and differences from pancreatic beta-cell mechanisms. *Diabetes*. 48:1763-1772, 1999

Yang XJ, Know LM, Pfaff DW, Mobbs CV. Metabolic pathways that mediate inhibition of hypothalamic neurons by glucose. *Diabetes*. 53:67-73, 2004

Zhao C, Rutter GA. Overexpression of lactate dehydrogenase A attenuates glucose-induced insulin secretion in stable MIN-6 beta-cell lines. *FEBS Lett*. 430:213-6, 1998

Zhao C, Wilson MC, Schuit F, Halestrap AP, Rutter GA. Expression and distribution of lactate/monocarboxylate transporter isoforms in pancreatic islets and the exocrine pancreas. *Diabetes*. 50:361-366, 2001

7. Anhang

7.1 Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

- Tab. 1: *Schwellenwerte der Plasmaglukose, bei der entsprechende Hypoglykämie-Reaktionen auftreten (nach Mitrakou et al., 1991)* 12
- Abb.1: *Verlauf der Blutglukosekonzentrationen während der Baseline-Phase und während des eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuches.* 36
- Abb. 2: *Verlauf der Plasmakonzentrationen von Laktat während der Baseline-Phase und während des eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuches.* 37
- Abb. 3: *Kumulative infundierte 20%ige Glukoselösung unter den vier verschiedenen Versuchsbedingungen: Euglykämischer Clampversuch/Placeboinfusion, Euglykämischer Clampversuch/Laktatinfusion, Hypoglykämischer Clampversuch /Placeboinfusion, Hypoglykämischer Clampversuch/Laktatinfusion.* 38
- Abb. 4: *Verlauf der Serumkonzentrationen von C-Peptid während der Baseline-Phase und während des eu- bzw. hypoglykämischen Clampversuches.* 39
- Abb. 5: *Plasmakonzentrationen von Adrenalin während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B).* 40
- Abb. 6: *Serumkonzentrationen von Somatotropin während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B).* 41
- Abb. 7: *Serumkonzentrationen von Kortisol während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (B).* 42

Abb. 8: Plasmakonzentrationen von Glukagon während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B). 43

Abb. 9: Plasmakonzentrationen von Noradrenalin während der Baseline-Phase und während des euglykämischen Clampversuches (A) und während der Baseline-Phase und während des hypoglykämischen Clampversuches (B). 44

7.2 Ethikantrag

Erklärung über die dem Betreuer von der Ethikkommission genehmigten Untersuchungen

Hiermit erkläre ich, Janne-Riborg Johnsen, dass die von mir durchgeführten Untersuchungen von der Ethikkommission der Medizinischen Universität zu Lübeck geprüft und genehmigt wurden (Aktenzeichen 03-131 vom 27.01.2004).

Janne-Riborg Johnsen

8. Danksagung

Prof. Dr. H.L. Fehm danke ich herzlich für die Bereitstellung der zur Durchführung der Studie benötigten wissenschaftlichen Einrichtungen.

Ganz besonders danke ich **Prof. Dr. Bernd Schultes** für die Vergabe des Dissertationsthemas und die hervorragende Betreuung der Studie, sowie die guten Anregungen während der Durchführung der Experimente und die hilfreichen Ratschläge bei der Abfassung der Arbeit.

Dr. Manfred Hallschmid, Dr. Sebastian Schmid, Dr. Camilla Jauch-Chara und Dr. Volker Merl danke ich sehr für die umfangreiche Unterstützung bei der Durchführung der Experimente und der Auswertung.

Ganz besonders danke ich meiner Mitdotorandin **Natalja Rau** für die sehr gute und strukturierte Zusammenarbeit.

Christiane Otten und **Ingrid von Lützu** danke ich sehr für die Bestimmung der Blutparameter und die organisatorische Hilfsbereitschaft im Schlaflabor.

9. Curriculum Vitae

Persönliche Daten Janne-Riborg Friederike Johnsen
geboren am 11.05.1977 in Kiel
verheiratet, zwei Kinder

Schulbildung

1984-1988 Grundschule Felde
1988-1997 Gymnasium Kieler Gelehrtenschule
1997 Abitur

Hochschulausbildung

1998-2000	Studium der Marinen Umweltwissenschaften an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg
2000-2007	Studium der Humanmedizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald und Universität zu Lübeck
10/2000-09/2001	1. Jahr Vorklinik an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
10/2001	Immatrikulation an der Universität zu Lübeck
09/2002	Physikum
08/2003	1.Staatsexamen
03/2006	2.Staatsexamen
05/2007	3.Staatsexamen

Berufstätigkeit

07/2007-09/2008	Anstellung als Ärztin in der Augenklinik des Universitätsklinikums Erlangen, ab 05/2008 in Elternzeit
-----------------	---

Promotion

	„Interaktion von Laktat mit zentralen Glukosesensoren und β -Zellen des Pankreas“ Doktorvater: Prof. Dr. med. Bernd Schultes, Medizinische Klinik I am Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck
2004/2005	Durchführung der Experimente

Veröffentlichung als Co-Autor

Schmid S, Chara K, Hallsschmid M, Frost N, Johnsen J, Born J, Schultes B. Laktat und Glukose als Modulatoren der Nahrungsaufnahme. Aktuelle Ernährungsmedizin 03, 2006 (Abstract)