

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. F. Hohagen

Effekte von intravenöser Laktatgabe auf den Hochenergie-Phosphatstoffwechsel in Gehirn und Skelettmuskel während einer Hypoglykämie

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

-Aus der Sektion Medizin-



Vorgelegt von

Barbara Dorothea Oswald

aus München

Lübeck 2012

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Kerstin M. Oltmanns

2. Berichterstatter/ Berichterstatterin: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Olaf Jöhren

Tag der mündlichen Prüfung: 16.01.2013

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den: 16.01.2013

- Promotionskommission der Sektion Medizin -

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	V
Sonderzeichen.....	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Laktat	2
1.2 Hypoglykämie.....	4
1.2.1 Definition, Ätiologie, klinische Symptomatik	4
1.2.2 Hormonelle Gegenregulation bei Hypoglykämie	5
1.2.2.1 Physiologische hormonelle Gegenregulation.....	5
1.2.2.2 Pathologische hormonelle Gegenregulation bei Diabetes mellitus.....	7
1.3 Hochenergie-Phosphatstoffwechsel in der ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie.....	8
1.4 Selfish-Brain-Theorie	12
1.5 Fragestellung und Hypothesen.....	14
2 Material und Methoden	15
2.1 Probanden	15
2.2 Studiendesign.....	15
2.3 ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie.....	18
2.4 Labormethoden	20
2.5 Statistische Auswertung.....	21
3 Ergebnisse.....	22
3.1 ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektren	22
3.1.1 ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektren des Gehirns	22
3.1.2 ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektren der Skelettmuskulatur	25
3.2 Laboranalysen der Blutentnahmen	27
3.2.1 Plasma-Glukose und Glukoseinfusionsrate	27
3.2.2 Insulin und C-Peptid	28
3.2.3 Laktat	30
3.2.4 Gegenregulatorische Hormone	31
4 Diskussion	35
4.1 ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektren des Gehirns	35
4.2 ³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektren der Skelettmuskulatur	39
4.3 Hormonelle Gegenregulation.....	41
4.4 Fazit, klinische Relevanz, Perspektive	43
5 Zusammenfassung.....	45
6 Literaturverzeichnis	46

7	Abbildungsverzeichnis	54
8	Tabellenverzeichnis	55
9	Anhang	56
10	Danksagung	57
11	Lebenslauf	58

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AMARES	Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral Fitting
ANLS	Astrozyten-Neuronen-Laktat-Shuttle
ANOVA	Varianzanalyse (Analysis of Variance)
ATP	Adenosintriphosphat
BE	Blutentnahme
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	Body-Mass-Index
BZ	Blutzuckerkonzentration
bzw.	beziehungsweise
¹³ C	¹³ Kohlenstoff
¹³ C-MRS	¹³ Kohlenstoff-Magnetresonanz-Spektroskopie
Cr	Kreatin
CRH	Corticotropin-Releasing-Hormon
DM	Diabetes mellitus
ELISA	Enzyme-Linked-Immunoassay
EMA	European Agency for Evaluation of Medicinal Products
G	Gauge
GABA	γ-Aminobuttersäure
GLUT	Glukosetransporter
¹ H	¹ Wasserstoff
HHN	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
¹ H-MRS	¹ Wasserstoff- Magnetresonanz-Spektroskopie
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HVL	Hypophysenvorderlappen
i.v.	intravenös
ISIS	Image Selected In Vivo Spectroscopy
IU	International Units
K _{ATP}	ATP-sensitiver Kaliumkanal
KG	Körpergewicht
MCT	Monocarbonsäure-Transporter
MRT	Magnetresonanz-Tomograph
MRUI	Magnetic Resonance User Interface
NNR	Nebennierenrinde

NOE	Nuklearer-Overhauser-Effekt
³¹ P	³¹ Phosphor
P _i	Anorganisches Phosphat
PCr	Phosphokreatin
PDE	Phosphodiester
³¹ P-MRS	³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie
³¹ P-MR-Spektrum	³¹ Phosphor-Magnetresonanz-Spektrum
PME	Phosphomonoester
ppm	parts per million
PVN	Nucleus paraventricularis
RIA	Radioimmunoassay
SEM	Standardfehler (Standard Error of Mean)
SNS	Sympathisches Nervensystem
Typ 1 DM	Diabetes mellitus Typ 1
Typ 2 DM	Diabetes mellitus Typ 2
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VK	Variationskoeffizient
VMH	Ventromedialer Hypothalamus
VOI	Volume of interest
WALTZ	Wideband Alternating-Phase Technique for Zero-Residual Splitting

Sonderzeichen

$>$	Größer als
$<$	Kleiner als
\geq	Größer/gleich als
\leq	Kleiner/gleich als
\pm	Plus/minus
$^\circ$	Grad
\times	Mal
α	Alpha
β	Beta
γ	Gamma
δ	Delta
\sim	Ähnlich

1 Einleitung

Der Diabetes mellitus (DM) ist eine chronische Stoffwechselerkrankung, die auf einem absoluten oder relativen Mangel an Insulin beruht und in deren Folge zumeist nach längerer Krankheitsdauer Schäden an Blutgefäßen und Nervensystem auftreten können. Eine strenge Blutzuckerkontrolle ist essentiell zur Vermeidung solcher Spätschäden. Begrenzt wird ein entsprechendes Therapieregime durch die drohende Gefahr von Hypoglykämien. Wiederholte Hypoglykämien können zu einer so genannten Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung führen. Hierbei kommt es zu einem unbemerkten Absinken des Blutzuckerspiegels und infolgedessen zu Funktionsausfällen des Gehirns bis hin zur Bewusstlosigkeit. Diese sogenannten „schweren Hypoglykämien“ stellen einen für den Diabetes-Patienten lebensbedrohenden Zustand dar, aus dem er sich nicht mehr selbst retten kann und auf die Hilfe Dritter angewiesen ist.

Ein alternatives zerebrales Energiesubstrat, welches kognitive Funktionen während einer Hypoglykämie schützt, könnte demnach von Relevanz für die Behandlung von Diabetes-Patienten mit rezidivierenden Hypoglykämien sein. Hierbei konzentrieren sich neuere Studien auf Laktat, das Anion der Milchsäure. Eine Anhebung der Blutlaktatkonzentration auch nach Einsetzen hypoglykämischer Symptome reduziert sowohl die hormonelle wie auch die symptomatische Reaktion auf eine insulininduzierte Hypoglykämie und begünstigt so den Erhalt kognitiver Funktionen sowohl bei Gesunden, wie auch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (Typ 1 DM) (77). Bisher konnte dieser neuroprotektive Effekt des Laktats während einer Hypoglykämie indirekt durch Nachweis einer reduzierten Ausschüttung gegenregulatorischer Hormone und Erhalt der kognitiven Leistungsfähigkeit gezeigt werden (67, 76, 124).

Um zu testen, ob der neuroprotektive Effekt einer Laktatinfusion auch direkt durch Messung des zerebralen Energiestatus nachzuweisen ist, wurde in der vorliegenden Studie der Gehalt an Hochenergie-Phosphaten mittels der ^{31}P -Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie (^{31}P -MRS) bestimmt. Es wurden die Komponenten Adenosintriphosphat (ATP) und Phosphokreatin (PCr) gemessen, deren Fließgleichgewicht den Gesamtenergieumsatz einer Zelle widerspiegelt (62). Da sowohl das die Hypoglykämie induzierende Insulin, als auch die gegenregulatorischen Hormone während einer

Hypoglykämie wichtige Wirkungen am Skelettmuskel haben, wurde zudem der muskuläre Hochenergie-Phosphatstoffwechsel während einer Laktatinfusion gemessen.

Einleitend soll eine kurze Übersicht über Laktat unter besonderer Berücksichtigung seiner Rolle als zerebraler Energieträger gegeben werden. Anschließend folgt ein Überblick über die Hypoglykämie und die damit verbundenen physiologischen und pathologischen neuroendokrinen gegenregulatorischen Vorgänge. Außerdem wird der Hochenergie-Phosphatstoffwechsel, gemessen mittels ^{31}P -Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie, vorgestellt.

1.1 Laktat

Laktat, das Anion der Milchsäure, ist eine Monocarbonsäure, entstammt der anaeroben Glykolyse und liegt im Plasma unter physiologischen Bedingungen in einer Konzentration von 0,6 - 2,4 mmol/l vor (55). Drei Zelltypen spielen eine besondere Rolle bei der systemischen Laktatproduktion: Erythrozyten, Zellen des Nierenmarks und Muskelzellen. Im zentralen Nervensystem wird Laktat von Zellen des Gehirns direkt gebildet, den Astrozyten (1, 18). Die weitaus bedeutendste Menge an peripher verfügbarem Laktat wird von arbeitenden Muskelzellen produziert. Sowohl kurz nach einsetzender starker Muskelaktivität als auch bei steigender Leistung während Daueraktivierung reicht die Kapazität der Atmungskette nicht aus, um genügend Energie durch aeroben Stoffwechsel zur Verfügung zu stellen. Dieses Defizit wird kurzfristig durch Energie aus der anaeroben Glykolyse, deren Endprodukt Laktat ist, gedeckt (72). Das in den Blutkreislauf abgegebene Laktat wird zum größten Teil von der Leber aufgenommen und in der Glukoneogenese zu Glukose aufgebaut (58). Anschließend wird Laktat entweder in Form von Glykogen gespeichert oder direkt als Glukose in den Blutkreislauf abgegeben und steht somit anderen Organen zur Verfügung. Außer von der Leber kann Laktat aus dem Blutkreislauf in Herzmuskelzellen und im Gehirn direkt oxidiert werden (32, 58, 61). Besonders in pathologischen Situationen wie bei Diabetes mellitus (50), Hypoglykämie (76) oder längerem Fasten (40, 48) stellt Laktat einen zerebralen Energieträger dar.

Die Monocarbonsäure Laktat liegt in physiologischer Konzentration im Blut zu 99 % dissoziiert vor (42). Da hydrophile Substanzen die Blut-Hirn-Schranke (BHS) nicht einfach überwinden können, gibt es Transporter, die Transmembranbewegungen über die BHS und den interzellulären Austausch zwischen verschiedenen Zelltypen ermöglichen;

der interzelluläre Austausch spielt eine besondere Rolle, wenn Laktat lokal synthetisiert wird. In zerebralem Gewebe wurden 3 Subtypen von Monocarbonsäure-Transportern (MCT) identifiziert: MCT 1, MCT 2 und MCT 4. Die Transporter zeigen eine unterschiedliche regionale und zelluläre Verteilung. So findet man den Transporter MCT 2 vorwiegend auf Neuronen, MCT 1 auf Astrozyten und MCT 4 sowohl auf Astrozyten als auch auf Endothelzellen der kleinen Gefäße (95).

Traditionelle Vorstellungen des Hirnstoffwechsels gehen von Glukose als wichtigstem zerebralen Energieträger aus, wobei Laktat lange als Abfallprodukt aus dem anaeroben Stoffwechsel galt, welches wieder in die systemische Zirkulation entlassen wird (17). Unterschiede in der Substratspezifität auf zellulärer Ebene haben jedoch zu einer neuen Hypothese des zerebralen Glukose- und Laktatstoffwechsels geführt: dem Astrozyten-Neuronen-Laktat-Shuttle, der im Folgenden erläutert wird. Das Nervengewebe des Gehirns setzt sich aus Neuronen (Nervenzellen) und einem speziellen Stützgewebe, den Gliazellen, zusammen. Unter den zentralen Gliazellen nehmen die Astrozyten eine besondere Stellung ein, da sie zum einen Teil der BHS sind und somit den Stoffaustausch zwischen Gehirn und systemischem Blutkreislauf kontrollieren. Zum anderen können sie über ihren engen Kontakt zu Neuronen das interzelluläre Milieu verändern und so Einfluss auf Erregbarkeit und Plastizität umliegender Neurone nehmen (119). Die Gesamtheit der Neuronen als kommunizierendes und integrierendes Element des Nervengewebes benötigt ~ 80 % des zerebralen Gesamtenergieverbrauchs für exzitatorische Signale (6). Glukose aus dem Systemkreislauf wird jedoch zu knapp 80 % in das astrozytäre Zellkompartiment aufgenommen (123). Weiterführende Untersuchungen konnten zeigen, dass Glukose das bevorzugte oxidative Energiesubstrat für Astrozyten ist (18), während Neuronen Laktat bevorzugen (18, 19). Dies hat zu einer neuen Hypothese bezüglich des zerebralen Glukose- und Laktatmetabolismus geführt. Pellerin und Magistretti gehen davon aus, dass Astrozyten auf neuronale Aktivität, ausgelöst durch den Neurotransmitter Glutamat, mit Glukoseaufnahme und konsekutiver Laktatabgabe reagieren (91). Das von den Astrozyten abgegebene Laktat steht den Neuronen für den aeroben Stoffwechsel zur Verfügung. Diese Hypothese wird Astrozyten-Neuronen-Laktat-Shuttle (ANLS) genannt (90) und unterstreicht, dass Laktat ein bedeutendes zerebrales, vorwiegend neuronales Energiesubstrat ist.

In verschiedenen Studien konnte bisher gezeigt werden, dass auch systemisches Laktat, ob endogen produziert oder exogen appliziert, zerebral aufgenommen und verstoffwechselt

wird (31, 32, 44, 47, 61, 73, 113, 121). Die dafür notwendigen Transportwege über die BHS sowie in die unterschiedlichen Zelltypen (Astrozyten und Neuronen) wurden identifiziert (112). Die zerebrale Metabolisierung von Laktat in vivo und in vitro wurde nachgewiesen (18, 19, 32, 47, 120, 121). Laktat kann neuronale Aktivität aufrechterhalten (102) und wirkt bei Hypoxien und Ischämien neuroprotektiv (11, 106, 107). Laktat ist als alternativer zerebraler Energieträger in der Lage, Stressreaktionen auf eine Hypoglykämie zu mildern. Die Perfusion des als Steuerungszentrum während einer Hypoglykämie bekannten ventromedialen Hypothalamus (VMH) mit Laktat senkt die hormonelle Stressantwort bei einer systemischen Hypoglykämie um 80 – 85 % (15). Ebenso hat während einer Hypoglykämie systemisch infundiertes Laktat einen abschwächenden Effekt auf neuroendokrine und neurokognitive Symptome (67, 76, 103, 124).

Wie eine Hypoglykämie definiert ist und welche gegenregulatorischen Mechanismen beim Gesunden ein weiteres Absinken des Blutzuckerspiegels verhindern, wird im folgenden Abschnitt beschrieben. Anschließend werden kurz die Veränderungen der hormonellen Gegenregulation bei Diabetes mellitus aufgeführt.

1.2 Hypoglykämie

1.2.1 Definition, Ätiologie, klinische Symptomatik

Hypoglykämie bezeichnet ein Absinken der Blutzuckerkonzentration (BZ) unter den als physiologisch bezeichneten Bereich, wobei es keinen Konsensus über den exakten Wert gibt, ab dem von einer Hypoglykämie gesprochen wird. Die angegebenen Schwellenwerte reichen von Blutglukosekonzentrationen von 3,9 mmol/l (2) bis hin zu 2,2 mmol/l (56, 109). Eine sinnvolle Schwelle scheint die von der EMEA (European Agency for Evaluation of Medicinal Products) angegebene Blutzuckerkonzentration von 3,0 mmol/l zu sein (36), da sie sich an dem Blutzuckerwert orientiert, bei dessen Unterschreitung kognitive Einschränkungen auftreten (20, 83). Klinisch wird eine Hypoglykämie nach der sogenannten Whipple-Trias diagnostiziert:

1. Reduzierte Blutzuckerkonzentration
2. Hypoglykämische Symptome
3. Verschwinden dieser Symptome unter Glukosegabe

Am häufigsten kommen Hypoglykämien bei Diabetes-Patienten vor, wobei relative oder absolute Überdosierungen von Insulin oder den insulinotropen oralen Antidiabetika (v.a. Sulfonylharnstoffe) die entscheidende Rolle spielen (4). Auch unter starker körperlicher Belastung sowie unter Alkoholgenuss erleben Diabetes-Patienten gehäuft hypoglykämische Zustände. Bei Gesunden treten Hypoglykämien bedeutend seltener auf, beispielsweise bei vegetativer Labilität (verstärkter Vagotonus), bei Alkoholexzess mit Nahrungskarenz oder durch Medikamentennebenwirkungen (29). Seltener Ursachen können Insulinome (erhöhte Insulinproduktion), Spätdumping nach Magenteilresektion oder schwere Lebererkrankungen (verminderte Glukoneogenese und Glukoseabgabe) sein; Ausfälle von Nebennierenrinde (NNR) oder Hypophysenvorderlappen (HVL) können auf Grund einer ungenügenden Sekretion der kontrainsulinären Hormone Kortisol, Adrenocorticotropes Hormon (ACTH) und Somatotropin zu Hypoglykämie führen (56).

Die Hypoglykämie äußert sich klinisch im Wesentlichen in zwei Symptomkomplexen, welche in autonom und neuroglukopen unterteilt werden. Eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems (SNS) bewirkt so genannte autonome Symptome. Zu den autonomen Symptomen werden Schwitzen, Zittern, Ängstlichkeit, Hitzegefühl, Hunger, Palpitationen und Übelkeit gezählt. Weiter abfallende Glukosekonzentrationen führen zu Funktionsstörungen höherer kognitiver Leistungen, die als neuroglukopene Symptome bezeichnet werden. Dazu zählen Schwindel, Müdigkeit, Verwirrung, Reizbarkeit, Konzentrationsschwierigkeiten und Augenflimmern (53). Fällt die Blutzuckerkonzentration unter 2,9 mmol/l kommt es zu stetig zunehmender Störung kognitiver Funktionen (20, 83, 101) und schließlich zu Krampfanfällen und Bewusstlosigkeit.

1.2.2 Hormonelle Gegenregulation bei Hypoglykämie

1.2.2.1 Physiologische hormonelle Gegenregulation

Ein komplexes, redundantes Netzwerk dient der hormonellen Gegenregulation bei niedriger Blutglukose. Es ist neuroanatomisch im Wesentlichen aus zwei Säulen aufgebaut, bestehend aus 1.) der über den ventromedialen Hypothalamus gesteuerten Aktivität des SNS und 2.) aus der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HHN). Gemeinsames Ziel ist die Erhöhung der zirkulierenden Blutglukose. Der VMH ist entscheidendes Zentrum in der Steuerung der hypoglykämischen Gegenregulation. Dort befinden sich so genannte glukosewahrnehmende Neuronen (71, 115), die bei niedriger Glukosekonzentration eine Aktivierung des SNS bewirken (93); bei hohen

Glukosekonzentrationen wird das SNS inhibiert (14). Eine im VMH induzierte Glukopenie führt zur Erhöhung der Hormonkonzentrationen von Adrenalin, Noradrenalin und Glukagon (16). Glukagon ist ein in den α -Zellen des Pankreas sowie in Intestinalzellen gebildetes Peptid, welches in dem zeitlich gestaffelten System der hypoglykämischen Gegenregulation gemeinsam mit Adrenalin für die schnelle gegenregulatorische Antwort verantwortlich ist. Glukagon wird bei niedriger Blutzuckerkonzentration auch unabhängig von zentralnervösen Stimuli in die Blutbahn abgegeben und fördert die hepatische Glykogenolyse und die Glukoneogenese aus Aminosäuren, Laktat und Glycerin. Das durch Aktivierung des SNS ausgeschüttete Adrenalin stimuliert die hepatische und renale (25) Glukoseproduktion, inhibiert aber zusätzlich die periphere Glukoseutilisation, sowie die pankreatische Insulinausschüttung. Noradrenalin wirkt ähnlich wie Adrenalin (30). Neben den schnell wirkenden Hormonen Glukagon, Adrenalin und Noradrenalin tragen bei protrahierten Hypoglykämien Somatotropin und Kortisol vermehrt zur Gegenregulation bei (68). Das hypophysäre Hormon Somatotropin induziert bei protrahierten Hypoglykämien von über zwei Stunden eine Insulinresistenz in Leber, Skelettmuskulatur und Fettgewebe (85). Kortisol ist Effektor der HHN-Achse. Die HHN-Achse vermittelt bei Hypoglykämie eine Signalkaskade, welche von der Freisetzung des Corticotropin-Releasing-Hormons (CRH) aus dem Nucleus paraventricularis (PVN) des Hypothalamus, gefolgt von der hierdurch geförderten Inkretion des ACTHs aus der Hypophyse, zu einer Ausschüttung von Kortisol aus der Nebenniere führt. Kortisol bewirkt nach dreistündiger milder Hypoglykämie eine vermehrte hepatische Glukoseproduktion, nach vier Stunden vermindert es die periphere Glukoseutilisation (34). Als Enzyminduktor hat Kortisol einen permissiven Effekt für die Adrenalin- und Glukagonwirkungen. Die Schwellenwerte zur vermehrten Inkretion für die gegenregulatorischen Hormone liegen nur wenig unterhalb der physiologischen Blutzuckerkonzentration von 3,9 – 5,5 mmol/l (55) (Blutzuckerswellenwerte: Adrenalin 3,82 mmol/l, Glukagon 3,77 mmol/l, Somatotropin 3,66 mmol/l, Kortisol 3,21 mmol/l) (108) und liegen somit deutlich über dem Schwellenwert von 2,9 mmol/l für autonome Symptome und kognitive Dysfunktion (20, 101).

Systemisch zirkulierende Glukose wird mit Hilfe des Glukosetransporters 1 (GLUT 1) über die BHS in das Gehirn aufgenommen. (89). Der Glukosetransport über die BHS, vermittelt durch den GLUT 1, ist ein passiver Transport, der eine erleichterte Diffusion ermöglicht, welche zum Konzentrationsausgleich, aber nicht zur Akkumulation führt. Die

Kapazität des Transporters ist abhängig von der Konzentration der Transportproteine und der Katalyseleistung (112).

Der wichtigste blutzuckersenkende Faktor ist das Insulin, ein aus 51 Aminosäuren bestehendes, strukturell aus zwei über Disulfidbrücken miteinander verbundenen Peptidketten aufgebautes Hormon. Eine Vorläuferform des Hormons wird in den β -Zellen des Pankreas produziert und durch proteolytische Abspaltung eines Peptids zu der wirksamen Form des Insulins aktiviert. Das abgespaltene Peptid ist als C-Peptid im Plasma messbar und ermöglicht als Zwischenprodukt der Insulinsynthese einen direkten Rückschluss auf die endogene Insulinsekretion. Insulin hemmt den Glykogenabbau und die Glukoneogenese in der Leber und steigert die hepatische und muskuläre Glukoseaufnahme mit konsekutiver Glykogenbiosynthese. Im Fettgewebe sinkt unter dem Einfluss von Insulin die Lipolyse, die Liponeogenese steigt (60).

1.2.2.2 Pathologische hormonelle Gegenregulation bei Diabetes mellitus

Die häufigsten Formen des Diabetes mellitus sind Typ 1 DM und Diabetes mellitus Typ 2 (Typ 2 DM). Typ 1 DM weist einen absoluten Insulinmangel auf, Typ 2 DM kann sich von einer vorwiegenden Glukoseintoleranz mit relativem Insulinmangel bis zu einem vorwiegend sekretorischen Defekt mit Insulinmangel erstrecken (54). Bei Diabetes-Patienten mit Hypoglykämien in der Vorgeschichte setzt die hormonelle Gegenregulation häufig erst bei niedrigeren Blutzuckerkonzentrationen als bei Gesunden ein; gleichzeitig werden geringere Spitzenwerte der gegenregulatorischen Hormone erreicht (5). Die Glukagoninkretion ist bei Diabetes-Patienten früh beeinträchtigt (3, 10, 39); sie sind dann entscheidend auf die Wirkung der Katecholamine angewiesen (96). Bei längerem Krankheitsverlauf wird zusätzlich die adrenerge Antwort insuffizient (79) mit der Konsequenz, dass die adrenerg vermittelten autonomen Warnsymptome einer Hypoglykämie ausbleiben. Fehlende Warnsymptome gemeinsam mit einer insuffizienten endogenen Glukosemobilisierung nehmen dem Diabetes-Patienten die Möglichkeit, auf eine drohende Hypoglykämie rechtzeitig durch Nahrungsaufnahme zu reagieren; in der Folge erreicht der Blutzucker schließlich so niedrige Werte, dass Bewusstseinstörung bis hin zu Bewusstseinsverlust auftritt. Mit der Entwicklung einer Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung (englisch: hypoglycemia unawareness) steigt auch das Risiko für schwere Hypoglykämien; diese sind definiert als Hypoglykämien, bei denen sich der Patient nicht mehr selbst helfen kann und auf die Hilfe Dritter angewiesen ist (3). Schon eine einzelne Episode einer Hypoglykämie hat eine generalisierte Reduktion der

neuroendokrinen und symptomatischen Antwort auf eine folgende Hypoglykämie zur Folge (51). Entscheidend für die reduzierte neuroendokrine Reaktion auf eine Folge-Hypoglykämie scheint der Anstieg des Serum-Kortisols bei der vorangehenden Hypoglykämie zu sein (33). Bei akribischer Vermeidung von Hypoglykämien kann die Hypoglykämie-Wahrnehmung aber sowohl bei kurzer Krankheitsdauer (37) als auch bei langjähriger Diabetesvorgeschichte wiederhergestellt werden (28).

Außer einem individuell an Mahlzeiten und BZ-Tagesprofil angepassten medikamentösen Regime könnten alternative Energieträger wie Laktat zur Verbesserung zerebraler Leistungen während einer Hypoglykämie beitragen. Eine Anhebung der Blutlaktatkonzentration auch nach Einsetzen hypoglykämischer Symptome reduziert sowohl die hormonelle, als auch die symptomatische Reaktion einer insulininduzierten Hypoglykämie und begünstigt so den Erhalt kognitiver Funktionen sowohl bei Gesunden, wie auch bei Patienten mit Typ 1 DM (77). Ferner trägt Laktat zur Glukoneogenese während einer Hypoglykämie bei Patienten mit Typ 1 DM bei (69). Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass die Glukoneogenese aus Laktat während einer insulininduzierten Hypoglykämie unabhängig von der Freisetzung der gegenregulatorischen Hormone einsetzt (84).

Bisher wurde der neuroprotektive Effekt von Laktat bei einer Hypoglykämie qualitativ im Sinne einer verminderten Sekretion gegenregulatorischer Hormone sowie einer Abschwächung autonomer und neuroglukopener Symptome gezeigt. Die ³¹Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie ermöglicht nun den semiquantitativen, organspezifischen Nachweis hochenergetischer Verbindungen und bietet sich somit als Methode zur Messung von Energieäquivalenten in verschiedenen Geweben an.

1.3 Hochenergie-Phosphatstoffwechsel in der ³¹Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie

Die ³¹Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie (³¹P-MRS) stellt eine nicht invasive Methode zur Beobachtung und semiquantitativen Darstellung endogener Metabolite in Organen und Geweben in vivo dar (7). Hirn- und Muskelgewebe eignen sich auf Grund spezieller Eigenschaften im Energiemetabolismus besonders zur Untersuchung mittels ³¹P-MRS. Sie weisen, im Unterschied zu anderen Organen, einen hohen Gehalt an Phosphokreatin (PCr) und Kreatin (Cr) auf, regulieren ihre ATP-Produktion in engen

Grenzen und haben eine hohe Aktivität der Kreatinkinase. ^{31}P -MRS misst Signale der wichtigsten an Energietransport und -speicherung beteiligten Metabolite: dies sind Moleküle mit hochenergetischen Phosphatbindungen (125). In einem ^{31}P -Phosphor-Magnetresonanz-Spektrum (^{31}P -MR-Spektrum) sind die Gruppen der Phosphomonoester (PME) und der Phosphodiester (PDE), das Phosphokreatin, das anorganische Phosphat (P_i) und die drei Phosphatgruppen des Adenosintriphosphats (α -ATP, β -ATP, γ -ATP) auflösbar (s. Abb. 1.1, S. 11 und Abb. 1.2, S.11). Der Gesamt-ATP Gehalt berechnet sich aus der Summe von α -, β - und γ -ATP dividiert durch drei. Die PME und PDE spielen für den kurzfristigen Energiestoffwechsel im Gegensatz zu den Hochenergie-Phosphaten PCr und ATP eine untergeordnete Rolle; sie werden vielmehr mit dem Umsatz membranärer Phospholipide in Zusammenhang gebracht (62). PCr ist eine Pufferform für energiereiche Phosphatgruppen in Gehirn- und Muskelzellen. Die PCr-Konzentration stellt ein zelluläres Energiereservoir dar, das eine schnelle ATP-Bereitstellung ermöglicht. Bei erhöhtem zellulärem ATP-Bedarf ermöglicht das Enzym Kreatinkinase eine kurzfristige Synthese von ATP aus Adenosindiphosphat (ADP) und PCr, freies Kreatin entsteht. Die Reaktion verläuft bidirektional mit einem molaren Verhältnis von 1 : 1 (98). Beim leicht sauren pH-Wert im Zytosol liegt das Gleichgewicht der Reaktion bei der ATP-Bildung (59), siehe folgende Formel (1.1).



Ein Abfall von ATP führt zu einem Abfall des PCr bei simultaner Zunahme des freien Kreatins und des anorganischen Phosphats, sodass ATP aus anorganischem Phosphat und ADP resynthetisiert werden kann (66). So wird der initiale Energiebedarf einer Zelle durch eine Verschiebung in diesem Gleichgewicht abgefangen. Sobald durch die Glykolyse der ATP-Verbrauch gedeckt werden kann, pendeln sich PCr und ADP auf dem erreichten Niveau ein. In der Erholungsphase kehrt sich der Prozess um, sodass nun PCr mittels ATP resynthetisiert wird, anorganisches Phosphat sinkt ab und PCr steigt an, bis das Ausgangsniveau wieder erreicht ist. Hieraus ergibt sich, dass die Messungen von ATP und PCr repräsentativ für den gesamten Umsatz an Hochenergie-Phosphaten einer Zelle sind.

Durch Bestimmung der Resonanzfrequenzen von Isotopen können die verschiedenen Stoffwechselprodukte identifiziert werden. Die Frequenz einer Resonanzlinie in einem Magnetresonanz-Spektrum wird in parts per million (ppm) der Resonanzfrequenz

bezüglich eines Referenzsignals angegeben. In der *in vivo* ^{31}P -MRS wird die schmale Linie des PCr als Referenzsignal mit der chemischen Verschiebung $\delta = 0$ ppm definiert. Die Signalintensitäten werden als Flächen unter den Kurven der ermittelten Signale berechnet. Die Intensität des Signals ist proportional zur Konzentration der untersuchten Metabolite im Volume of interest (VOI) (125). In dieser Studie steht jedoch nicht eine Quantifizierung von Hochenergie-Phosphat-Konzentrationen im Vordergrund, sondern es sollen relative Unterschiede zwischen Laktat- und Kontrollbedingung dargestellt werden. Da es keine Normwerte für die mittels ^{31}P -MRS errechneten Konzentrationen der Hochenergie-Phosphate gibt, kann durch Berechnung von Quotienten eine Vergleichbarkeit der Werte hergestellt werden. Das anorganische Phosphat P_i dient dabei als Referenzwert zur Berechnung der Quotienten PCr/P_i und ATP/P_i . Die Angabe von Quotienten ist eine übliche Methode, um Informationen aus Spektrenmessungen darzustellen (125). Die Zuordnung einzelner Phosphorverbindungen zu den Resonanzlinien eines ^{31}P -MR-Spektrums kann den folgenden Abbildungen Abb. 1.1, S. 11 und Abb. 1.2, S. 11 entnommen werden. Die breiten Untergrundresonanzen der Gehirnspektren kommen durch Phospholipide, welche Vesikeln oder Makromolekülen zugeordnet werden können, zustande (126).

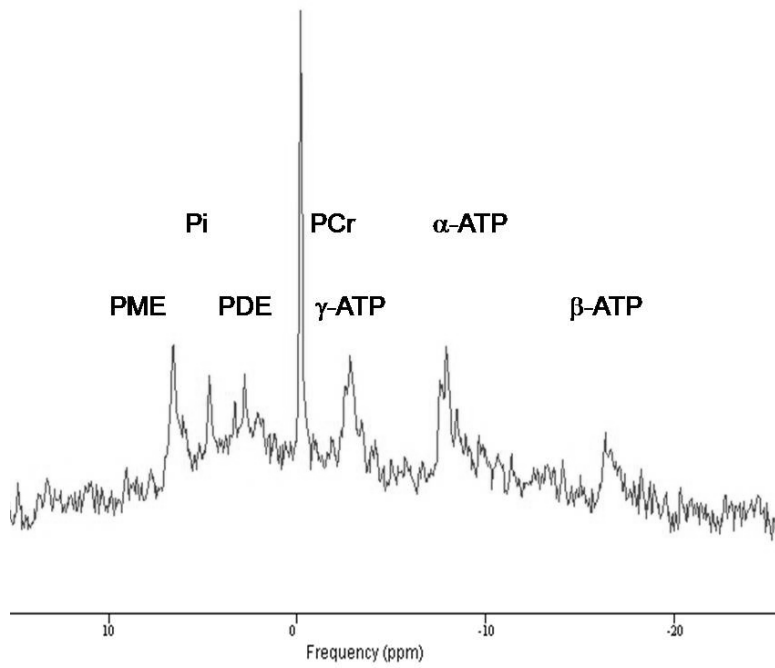


Abb. 1.1: ^{31}P -MR-Spektrum Gehirn (105); PME: Phosphomonoester; PDE: Phosphodiester; P_i : anorganisches Phosphat; PCr: Phosphokreatin; α -, β -, γ -ATP: Phosphate des Adenosintriphosphats

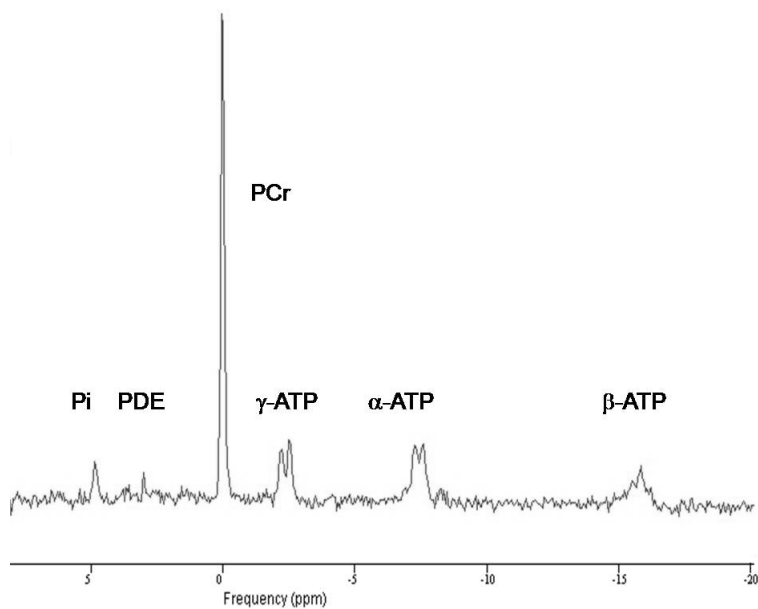


Abb. 1.2: ^{31}P -MR-Spektrum Muskulatur (105); PME: Phosphomonoester; PDE: Phosphodiester; P_i : anorganisches Phosphat, PCr: Phosphokreatin; α -, β -, γ -ATP: Phosphate des Adenosintriphosphats

1.4 Selfish-Brain-Theorie

Das Konzept der vorliegenden Studie basiert auf dem im so genannten Selfish-Brain-Modell vorgeschlagenen Paradigma, welches das Gehirn als übergeordnetes Organ der gesamten Energieversorgung des Organismus annimmt. Die Regulation der ATP-Konzentration des Gehirns steht dabei im Mittelpunkt. Das Gehirn stellt zuerst seine eigene Energieversorgung sicher und kann diese seinen Bedürfnissen entsprechend modulieren - eine Eigenschaft, die besonders während einer Energieverknappung im Rahmen einer Hypoglykämie gefordert wird. Das Gehirn kann seinen eigenen ATP-Gehalt durch zwei Mechanismen steigern: die längerfristige Möglichkeit ist die Nahrungsaufnahme, die kurzfristige Möglichkeit die so genannte Allokation. Ist keine Möglichkeit zur Nahrungsaufnahme vorhanden, greift der Mechanismus der Allokation. Die Allokation ist die Zuteilung endogener Energiereserven zwischen Gehirn und Peripherie; sie wird durch drei Punkte bestimmt: 1. der Transport von Glukose über die BHS in das Gehirn wird gefördert, 2. die Stressachsen werden aktiviert, um endogene Glukose zu mobilisieren und 3. wird die Glukoseaufnahme in Skelettmuskel- und Fettzellen inhibiert.

Der aktive Vorgang der Allokation wird zerebral von einer glutamatergen Neuronenpopulation vermittelt (92). Neuronale glutamaterge Aktivität führt erstens auf lokal zellulärer Ebene zu einer verstärkten neuronal-astrozytären Interaktion. Das sich nach neuronaler Aktivität im synaptischen Spalt befindende Glutamat wird von Astrozyten aufgenommen, in einem energieverbrauchenden Prozess regeneriert (75) und anschließend an die Neuronen zurückgegeben, sodass es für eine erneute glutamaterge Signalübertragung zur Verfügung steht. Diese energieverbrauchenden Vorgänge führen zu sinkenden astrozytären ATP-Konzentrationen, welche am GLUT 1, der sich an den Astrozytenendfüßchen ebenso wie luminal und abluminal an den Endothelien befindet, eine Konformationsänderung bewirken. Durch die so hervorgerufene Konformationsänderung wird die Glukoseaufnahme über die BHS unspezifisch gefördert (13, 91). Astrozyten können den ihnen entstandenen Energiebedarf aus der Metabolisierung von Glukose zu Laktat decken (74) und entlassen Laktat anschließend in den extrazellulären Raum, wo es Neuronen als Energiesubstrat zur Verfügung steht (19). Sinkende neuronale ATP-Konzentrationen führen zweitens zur Aktivierung spezifischer glutamaterger Projektionen. Diese ziehen zum VMH und fördern dort über die Aktivierung des SNS und der HHN-Achse die endogene Glukosemobilisation mit gleichzeitiger

Inhibierung der Glukoseaufnahme in Skelettmuskel- und Fettzellen (s. Abschnitt 1.2.2 Hormonelle Gegenregulation bei Hypoglykämie, S. 5).

Der ruhende Skelettmuskel trägt zur zerebralen Energieversorgung bei einer Hypoglykämie dadurch bei, dass infolge der durch adrenerge Signale gehemmten pankreatischen Insulinausschüttung (49) die insulinabhängige Glukoseaufnahme in den Skelettmuskel über GLUT 4 unterbunden wird. Gleichzeitig steht die zirkulierende Glukose dann für den insulinunabhängigen Transport über die BHS via GLUT 1 zur Verfügung (93). Der Skelettmuskel deckt seinen Energiebedarf während einer Hypoglykämie vorwiegend aus freien Fettsäuren (38).

1.5 Fragestellung und Hypothesen

Patienten mit Diabetes mellitus entwickeln bei rezidivierenden Hypoglykämien eine verminderte und verspätete hormonelle Gegenregulation mit beeinträchtigter Hypoglykämie-Wahrnehmung (3). Laktat, ein alternatives zerebrales Energiesubstrat, kann kognitive Funktionen während einer Hypoglykämie schützen und die endokrine Gegenregulation abschwächen (67, 76, 124). Ob sich dieser neuroprotektive Effekt von Laktat in einem höheren zerebralen Gehalt an Hochenergie-Phosphaten, abgebildet durch die Quotienten ATP/P_i und PCr/P_i , widerspiegelt, soll in der vorliegenden Studie überprüft werden. Weiterhin ist bekannt, dass die muskuläre Glukose- und Laktataufnahme während einer Hypoglykämie durch die gegenregulatorischen Hormone gehemmt wird. Um die unterschiedlichen Reaktionen von Steuerungszentrum (Gehirn) und reguliertem System (Skelettmuskel stellvertretend für die Peripherie) zu verdeutlichen, wurden ^{31}P -MR-Spektren beider Organe gemessen. Auch wenn die Bestätigung der Hypothesen insbesondere von Relevanz für Patienten mit Diabetes mellitus wäre, wurden die Hypothesen zunächst an einem Patientenkollektiv von jungen gesunden Männern getestet. So konnten durch die Krankheit bereits pathologisch veränderte hormonelle Antworten auf eine Hypoglykämie ausgeschlossen werden.

Folgende Hypothesen wurden aufgestellt:

1. Eine erhöhte Laktatkonzentration stellt eine zusätzliche Energiequelle für den zerebralen Stoffwechsel während einer Hypoglykämie dar. Dies sollte sich entsprechend in höheren Werten der Quotienten ATP/P_i und PCr/P_i unter Laktatgabe im Vergleich zu der Kontrollbedingung in der ^{31}P -MRS widerspiegeln.
2. Während einer Hypoglykämie verhindern die gegenregulatorischen Mechanismen eine Glukoseaufnahme via GLUT 4 in den Skelettmuskel. Es wird kein Einfluss der Laktatinfusion auf den muskulären Hochenergie-Phosphatstoffwechsel während einer Hypoglykämie erwartet.
3. Laktat, als alternativer zerebraler Energieträger, ist in der Lage, die hormonelle Gegenregulation bei einer insulininduzierten Hypoglykämie abzuschwächen.

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Die Untersuchungen wurden an einer Probandengruppe von 16 gesunden, schlanken Männern im Alter zwischen 21 und 28 Jahren (durchschnittliches Alter $24,4 \pm 0,43$ Jahre) vorgenommen. Die Teilnehmer hatten einen Body-Mass-Index (BMI errechnet aus Körpergewicht (KG) in $\text{kg}/(\text{Körpergröße in m}^2)$) zwischen 20 und 26 kg/m^2 (durchschnittlicher BMI $22,7 \pm 0,41 \text{ kg/m}^2$) und nahmen keine Medikamente regelmäßig ein. Ausschlusskriterien waren akute oder chronische internistische oder neurologische Erkrankungen, Angststörungen, Alkohol- oder Nikotinabusus, Leistungssport sowie besondere Belastungssituationen psychischer und physischer Art. Die Probanden durften im Zeitraum von 4 Wochen vor und während der Versuche nicht an anderen Studien teilnehmen, kein Blut spenden, sollten wenigstens eine Woche vor dem Versuchstag einen normalen Tag-Nacht-Rhythmus einhalten und durften keiner erschöpfenden körperlichen Tätigkeit nachgehen. Am Abend vor dem Versuchstag waren die Probanden gehalten, nicht später als um 23 Uhr zu Bett zu gehen. Am Versuchstag selbst durften die Probanden ab 10 Uhr keine Nahrung mehr zu sich nehmen, um zu Versuchsbeginn um 18 Uhr nüchtern zu sein.

Die Studie fand in Einklang mit der Deklaration von Helsinki statt und wurde von der örtlichen Ethikkommission genehmigt (Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck, Aktenzeichen 02-068, 2002). Des Weiteren unterzeichnete jeder Freiwillige nach ausführlicher Aufklärung über den Studienablauf und die mit der Teilnahme verbundenen Risiken zu Beginn des ersten Versuchs eine schriftliche Einwilligungserklärung.

2.2 Studiendesign

Hypoglykämische Clamps, modifiziert nach der von DeFronzo standardisierten hyperinsulinämisch-euglykämischen Glukoseclampstechnik (35), wurden an allen 16 Probanden unter zwei Bedingungen durchgeführt: an je einem Termin wurde während der

Hypoglykämie Laktat infundiert (Laktatbedingung), an dem jeweils anderen Termin Ringerlösung als Plazebo (Kontrollbedingung) verwendet. Die Reihenfolge der Bedingungen innerhalb der Probanden wurde randomisiert, die Experimente waren einfach verblindet. Ein Mindestabstand von 4 Wochen lag zwischen den einzelnen Experimenten.

Es wurden Blutproben zur Konzentrationsbestimmung von Glukose, Insulin, C-Peptid, Laktat, Adrenalin, Noradrenalin, Kortisol und ACTH entnommen. Des Weiteren wurden Spektren hochenergetischer Phosphate mittels ^{31}P -MRS in der Rinde des visuellen Kortex (Okzipitallappen) und in der Wadenmuskulatur gemessen. Im Folgenden wird der zeitliche Ablauf erläutert; dieser ist in Abb. 2.1, S. 17 graphisch dargestellt.

Ablauf

Die Probanden meldeten sich um 17 Uhr in den Räumen des Instituts für Neuroradiologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH), Campus Lübeck; zu Beginn wurde jeweils eine 18 G (Adsyte Pro, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) Venenverweilkanüle in eine oberflächliche Vene beider Unterarme gelegt. Zwanzig Minuten später wurde die erste Blutprobe zur Messung der hormonellen Ausgangskonzentrationen entnommen. Dieser Messzeitpunkt wurde „Start“ genannt. Um 18 Uhr fand die erste Spektrenmessung zur Bestimmung der Baselinewerte (Messzeitpunkt B1) statt. Zeitgleich wurde die zweite Blutprobe (B1) entnommen. Anschließend wurde die Infusion mit Laktat (Natriumlaktat i.v. 0,4 mol/l, 500 ml, Apotheke UKSH) beziehungsweise Ringerlösung (Ringerlösung 500 ml, Berlin Chemie AG, Deutschland) gestartet. Die Infusionsrate betrug $50 \mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg KG}^{-1}$ für die ersten 20 Minuten und wurde dann auf $30 \mu\text{mol} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg KG}^{-1}$ reduziert (103). Zehn Minuten, nachdem die Infusion gestartet wurde, fanden die zweite Spektrenmessung beider Organe sowie die dritte Blutentnahme (BE) statt. Dieser Messzeitpunkt wurde mit „B2“ bezeichnet. Sobald die Laktatinfusion mindestens 30 Minuten verabreicht worden war, wurde die Insulingabe gestartet. Initial wurde für zwei Minuten ein Insulinbolus (H-insulin, Hoechst, Frankfurt, Deutschland) mit einer Rate von $5 \text{ mIU} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg KG}^{-1}$ infundiert, anschließend wurde bis zum Ende der Hypoglykämie gleich bleibend eine Rate von $1,5 \text{ mIU} \times \text{min}^{-1} \times \text{kg KG}^{-1}$ infundiert. Blutzuckerwerte wurden alle fünf Minuten aus venösem Vollblut kontrolliert (B-Glucose-Data-Management, HemoCue GmbH, Großostheim, Deutschland). Der Blutzucker wurde rasch auf Werte von 2,2 mmol/l gesenkt. Zur Steuerung des Blutglukosespiegels wurde eine 20 % Glukoselösung (500 ml, Delta Select, Pfullingen, Deutschland) verwendet. Die Glukoseinfusionsraten wurden entsprechend dem

angestrebten BZ reguliert. Das hypoglykämische Plateau wurde für 60 Minuten gehalten. Blutproben zur Bestimmung der gegenregulatorischen Hormone wurden alle 10 Minuten entnommen. Während des hypoglykämischen Plateaus fanden parallel zu den Blutentnahmen drei Spektrenmessungen pro Organ statt. Dementsprechend wurden die Spektren mit H1, H2 und H3, die zugehörigen Blutproben mit H1.1, H1.2, H2.1, H2.2, H3.1 und H3.2 bezeichnet. Die Insulininfusion wurde nach der Messung H3 gestoppt. Im Anschluss wurde die Blutzuckerkonzentration des Probanden auf normoglykämie Werte ($BZ \geq 5 \text{ mmol/l}$) gehoben und stabilisiert, sowohl durch Glukoseinfusion als auch durch Nahrungsaufnahme. Konnten Blutzuckerwerte $\geq 5 \text{ mmol/l}$ gemessen werden, wurde die zehnte Blutentnahme und die letzte Spektrenmessung durchgeführt. Der Messzeitpunkt für dieses Spektrum und die zugehörige Blutprobe wurde „Ende“ genannt. Erst nach Beendigung der letzten Spektrenmessung wurde die Infusion (Laktat oder Ringerlösung) abgeschaltet. Den Teilnehmern wurde ihr Blutzuckerspiegel zu keinem Zeitpunkt der Studie mitgeteilt.

In der Abb. 2.1 kann der Versuchsablauf graphisch nachvollzogen werden.

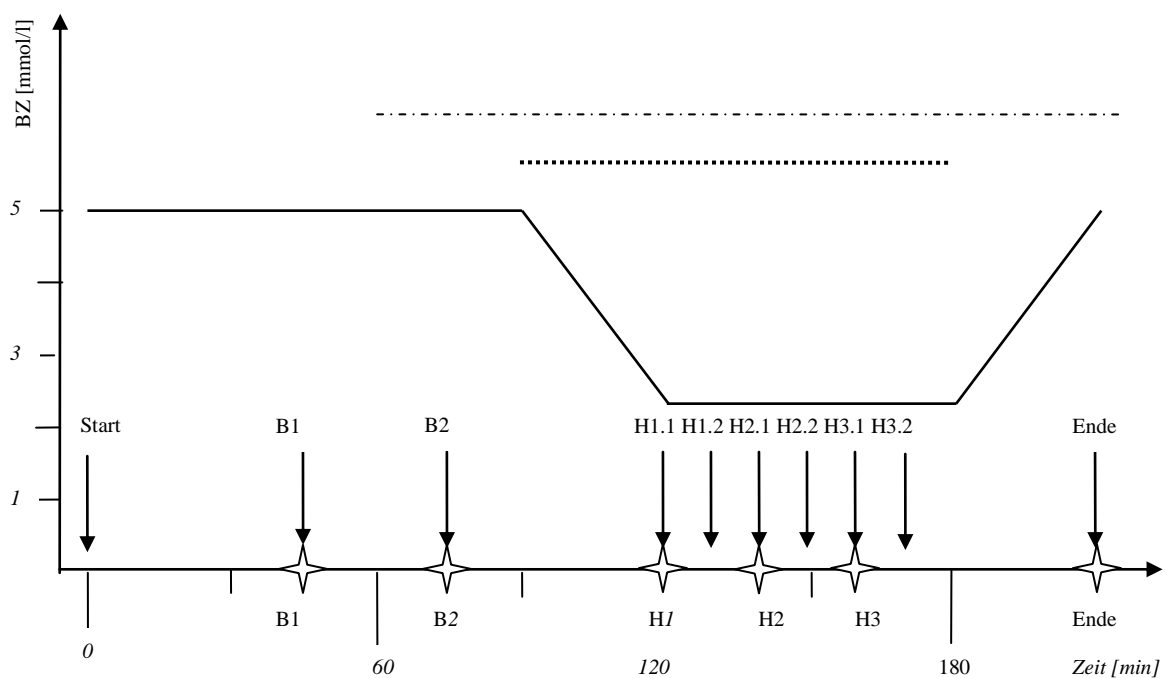


Abb. 2.1: Versuchsablauf; \longrightarrow : Blutentnahmen; \star : Spektren B1-E; $-\cdot-\cdot-\cdot-$: Laktatinfusion; $\cdots\cdots\cdots$: Insulininfusion; — : Verlauf der Blutzuckerkonzentration

2.3 ³¹P-Phosphor-Magnetresonanz-Spektroskopie

Die Messungen wurden in einem klinisch genutzten 3.0 Tesla Magnetresonanztomographen (MRT) (Achieva, Philips Healthcare, Best, Niederlande) durchgeführt. Die Probanden lagen entspannt in Rückenlage, sie wurden angewiesen, die Augen geöffnet zu halten. Von jedem Probanden wurden Spektren im Gehirn und in der Wadenmuskulatur, jeweils im Wechsel, gemessen. Die Reihenfolge der Organmessungen (Beginn mit Hirn oder Muskulatur) war sowohl innerhalb der Probandengruppe als auch für jeden einzelnen Termin randomisiert.

Zur Messung der ³¹P-MR-Spektren wurden zwei einfachresonante ³¹P-Oberflächenspulen (ringförmig, Durchmesser 14 cm, Philips Healthcare, Best, Niederlande) verwendet. Die zur zerebralen Messung verwendete Spule wurde in ein Kopfschaumstoffpolster eingelassen und unter dem Hinterkopf des Probanden platziert (Zielvolumen im Okzipitallappen). Die Messung der ³¹P-MR-Spektren der Muskulatur erfolgte am linken Wadenmuskel (Zielvolumen im Musculus triceps surae). Die Spule wurde mit Klettbändern an der Wade fixiert und in einer Schaumstoffschablone gelagert. Um beide Messpositionen ohne Umlagerung und Bewegung des Probanden zu erreichen, wurde eine Tischverlängerung verwendet. Hierdurch konnte der Proband relativ zum Isozentrum des Magneten verschoben werden; so kamen beide Messvolumina abwechselnd im Isozentrum des Tomographen zu liegen.

Eine ausreichende Relaxation der Metabolite wurde durch eine Repetitionszeit von 3000 ms gewährleistet. Die Gesamtmesszeit betrug fünf Minuten pro Spektrum bei einer Mittelung über 96 Messungen, vier verworfenen Anregungen zur Einstellung eines dynamischen Gleichgewichtes, Aufnahme von 2048 Datenpunkten und einer Bandbreite von 6000 Hz. Daraus ergab sich eine Auslesezeit von 342 ms. Die probandenspezifische Larmorfrequenz des ³¹P-Nuklids wurde vor jeder Messung neu anhand der ¹H-Wasserstoff-Larmorfrequenz (¹H-Larmorfrequenz), bestimmt durch die Körperspule, ermittelt. Im Shim-Verfahren höherer Ordnung wurde das statische Magnetfeld so abgestimmt, dass Halbwertsbreiten für das Wassersignal von unter 35 Hz für die Muskulatur und 15 Hz für das Gehirn erreicht wurden. Zur Nutzung des Nuklearen-Overhauser-Effekts (NOE) (8) für die Signalverstärkung während der Anregungsphase und ¹H-Entkopplung nach dem WALTZ-4-Schema (Wideband Alternating-Phase Technique for Zero-Residual Splitting) (9) in der Auslesephase wurde die in dem MRT installierte

Körperspule verwendet. Dadurch konnte die Signalstärke bei gleich bleibendem Rauschen verbessert werden. Eine hohe Ortsauflösung zur präzisen Lokalisierung der quaderförmigen Voxel wurde durch Anwendung von magnetischen Feldgradienten erreicht. Zur orts aufgelösten Spektrenaufnahme wurden vom Hersteller zur Verfügung stehende Single-Voxel-Messsequenzen nach der ISIS-Methode (Image Selected In Vivo Spectroscopy Methode) (87) verwendet. Für beide Messbedingungen wurde ein Volumen von $40 \times 50 \times 50 \text{ mm}^3 = 100 \text{ ml}$ gewählt, um ein ausreichendes Signal-Rauschverhältnis zu erreichen. Zur Auswertung der Daten wurde das MRUI (Magnetic Resonance User Interface) benutzt; es wurde ein Zerofilling auf 4096 Datenpunkte und eine Glättung mit einem 5 Hz-Lorentz-Filter angewandt. Die Berechnung der Spektren und der Signalintensitäten erfolgte anhand des AMARES (Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral Fitting) Algorithmus (122).

2.4 Labormethoden

Serum- und Plasmaüberstände der Blutentnahmen wurden bis zur gemeinsamen Analyse aller Proben bei $-72\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt. Die Laktatplasmakonzentrationen wurden noch am Versuchsabend von dem Zentrallabor der Klinischen Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck bestimmt; gleichfalls wurden dort die Plasmaglukosekonzentrationen mit der Hexokinase-Reaktion bestimmt. In Tab. 2.1 sind die analysierten Parameter mit Analysemethode, Variationskoeffizienten (VK), Entnahmesystem und Lagerungssystem dargestellt.

Tab. 2.1: Analysemethoden, Variationskoeffizienten, Entnahmesysteme und Lagerungssysteme der Laboranalysen; HPLC: High Pressure Liquid Chromatography; ELISA: Enzyme-Linked-Immunoassay; RIA: Radioimmunoassay; VK: Variationskoeffizient

Blutwert	Analytisches Verfahren	Firma	Inter-assay VK	Intra-assay VK	Entnahmesystem	Lagerungssystem
Adrenalin	HPLC	Recipe Chemicals + Instruments, München	< 4,2 %	< 7,6 %	ClinRep®, Recipe Chemicals + Instruments, München	Röhren 5 ml, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
Nor-adrenalin	HPLC	Recipe Chemicals + Instruments, München	< 5,3 %	< 6,7 %	ClinRep®, Recipe Chemicals + Instruments, München	Röhren 5 ml, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht
ACTH	ELISA	Immulite, DPC, Los Angeles, USA	< 9,4 %	< 6,1 %	EDTA Monovetten®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Reaktionsgefäße 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg
Kortisol	ELISA	Immulite, DPC, Los Angeles, USA	< 6,3 %	< 5,8 %	Serum-Gel Monovetten®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Reaktionsgefäße 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg
Insulin	ELISA	Immulite, DPC, Los Angeles, USA	< 6,1 %	< 5,2 %	Serum-Gel Monovetten®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Reaktionsgefäße 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg
C-Peptid	RIA	Immulite, DPC, Los Angeles, USA	< 10,5 %	< 7,6 %	Serum-Gel Monovetten®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	Reaktionsgefäße 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg
Laktat	AEROSET Analyzer	Abbott Laboratories, Abbott Park, Illinois, USA	< 0,9 %	< 1,1 %	Fluorid-Plasma Monovetten®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	-
Plasma Glukose	Nichols Institute Diagnostics	Bad Vilbel, Deutschland	< 4,2 %	< 4,2 %	Fluorid-Plasma Monovetten®, Sarstedt AG & Co, Nümbrecht	-

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde mit der 12. Version des Programms SPSS (SPSS, Chicago, Illinois) berechnet. Alle Werte sind als Mittelwert \pm Standardfehler (SEM) angegeben. Die statistischen Analysen basieren auf zweifaktoriellen Varianzanalysen für Messwiederholungen (ANOVA) mit den Faktoren „treat“ und „time“. Der Faktor „treat“ repräsentiert die zwei Bedingungen Plazebo und Laktat. Der Faktor „time“ repräsentiert den Verlauf der Messergebnisse der einzelnen Parameter und entspricht dem Messwiederholungsfaktor. Der Interaktionseffekt beider Faktoren wurde mit „treat x time“ bezeichnet. Ein signifikanter Interaktionseffekt zeigt die Wirksamkeit des „treatments“, also der Laktatinfusion vs. Plazebo, an. Die Ergebnisse wurden nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert. Für Paarvergleiche zwischen den Bedingungen zu Einzelzeitpunkten wurden gepaarte t-Tests verwendet. Das Signifikanz-Niveau wurde bei 0,05 festgelegt. Die graphische Auftragung der Daten erfolgte mit Sigma Plot 9.0 für Windows.

3 Ergebnisse

3.1 ³¹Phosphor-Magnetresonanz-Spektren

3.1.1 ³¹Phosphor-Magnetresonanz-Spektren des Gehirns

Die graphische Darstellung der Messergebnisse wird in den Abbildungen Abb. 3.1, S. 24 und Abb. 3.2, S. 24 gezeigt. Vor Beginn der Intervention bestand kein Unterschied zwischen den Bedingungen bezüglich der zerebralen Hochenergie-Phosphate ($p = 0,978$ für den ATP/P_i-Quotienten und $p = 0,598$ für den PCr/P_i-Quotienten für den t-Test zu dem Einzelzeitpunkt B1). Die weiteren Ergebnisse lassen sich in Effekte der Laktatinfusion während der Normo- und in solche während der Hypoglykämie gliedern.

In der zu den Messzeitpunkten B1 und B2 bestehenden Normoglykämie zu Beginn der Intervention bewirkte die Laktatgabe einen signifikanten Anstieg des ATP/P_i-Quotienten ($p < 0,05$ für den time-Effekt zu den Messzeitpunkten B1 und B2). Ein Einfluss der Laktatgabe auf den PCr/P_i-Quotienten in diesem Zeitraum konnte nicht gezeigt werden ($p = 0,077$ für den time-Effekt zu den Messzeitpunkten B1 und B2).

Ebenso zeigte sich in der Normoglykämie nach Beendigung der Hypoglykämie ein signifikanter Effekt der Laktatinfusion auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate: In der Laktatbedingung stieg der ATP/P_i-Quotient durch die Laktatinfusion um 31 % von $8,18 \pm 0,58$ während der letzten Messung in der Hypoglykämie (H3) auf $10,74 \pm 1,13$ in der Normoglykämie (Messzeitpunkt „Ende“). In der Kontrollbedingung hingegen war ein Abfall des ATP/P_i-Quotienten um 12,7 % von $8,91 \pm 0,72$ auf $7,78 \pm 0,4$ zu verzeichnen ($p = 0,004$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ zu den Zeitpunkten H3 und Ende). Der signifikante Einfluss der Laktatgabe in der Normoglykämie nach Beendigung der Hypoglykämie konnte auch für den PCr/P_i-Quotienten nachgewiesen werden. Hier zeigte sich in der Laktatbedingung ein Anstieg um 41,5 % von $2,78 \pm 0,15$ auf $3,93 \pm 0,40$. In der Kontrollbedingung wurde eine geringfügige Abnahme von 1,2 % des Wertes für den PCr/P_i-Quotienten gemessen: der Wert für den PCr/P_i-Quotient sank von $2,98 \pm 0,16$ auf $2,94 \pm 0,14$ ($p = 0,012$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ zu den Zeitpunkten H3 und Ende).

ANOVA-Analysen für Messwerte während des hypoglykämischen Plateaus (Messzeitpunkte H1-H3) beider Bedingungen offenbarten keinen Unterschied für den PCr/P_i-Quotienten ($p = 0,119$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ unter Einschluss der Messzeitpunkte H1-H3) und den ATP/P_i-Quotienten ($p = 0,083$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ unter Einschluss der Messzeitpunkte H1-H3). ANOVA-Analysen für alle Messzeitpunkte und beide Bedingungen zeigten keinen Einfluss der Laktatinfusion auf den PCr/P_i-Quotienten bei Betrachtung der gesamten Versuchsdauer ($p = 0,115$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ bei Einschluss aller Messzeitpunkte, s. Abb. 3.2, S. 24). Die Laktatinfusion bewirkte, wiederum bei Betrachtung der gesamten Versuchsdauer, den Trend für einen Anstieg des ATP/P_i-Quotienten ($p = 0,065$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ bei Einschluss aller Messzeitpunkte, s. Abb. 3.1, S. 24).

Die Konzentration des anorganischen Phosphats (P_i) war während der gesamten Versuchsdauer in beiden Bedingungen vergleichbar ($p = 0,070$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte).

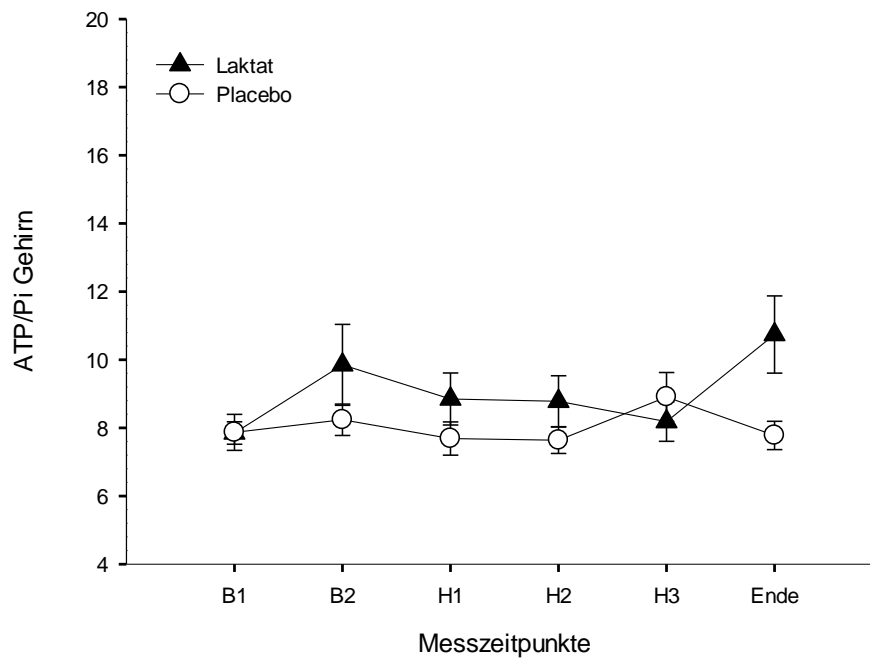


Abb. 3.1: Darstellung der Werte für den ATP/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende im Gehirn unter Laktat- und Placebobedingung. Die Darstellung erfolgt als Mittelwerte \pm SEM

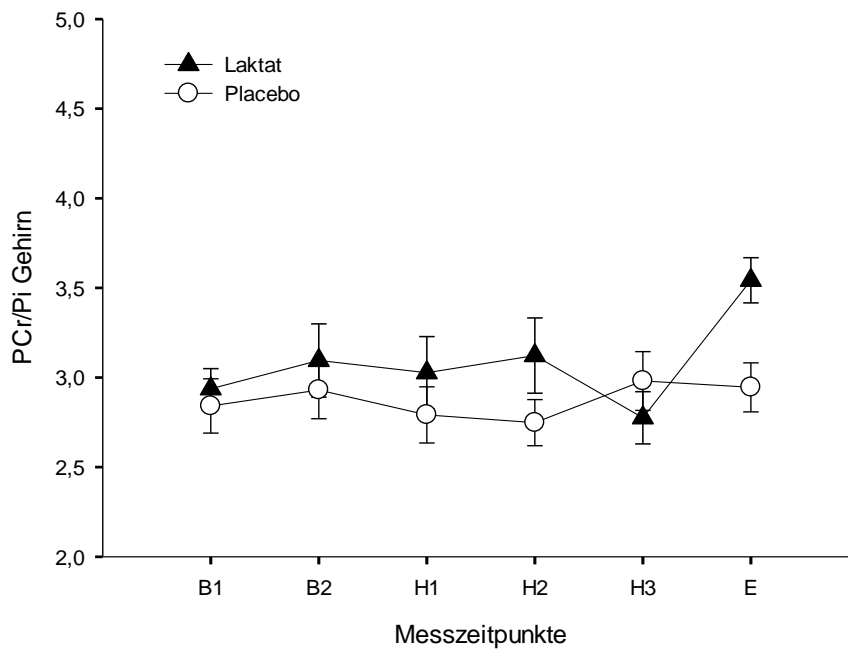


Abb. 3.2: Darstellung der Werte für den PCr/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende im Gehirn unter Laktat- und Placebobedingung. Die Darstellung erfolgt als Mittelwerte \pm SEM

3.1.2 ³¹P-Phosphor-Magnetresonanz-Spektren der Skelettmuskulatur

Zu Beginn der Messungen bestand kein Unterschied zwischen den Bedingungen hinsichtlich der muskulären Hochenergie-Phosphate ($p > 0,05$ für den ATP/P_i-Quotient und PCr/P_i-Quotient für den t-Test zu dem Einzelzeitpunkt B1). Der für die Skelettmuskulatur berechnete ATP/P_i-Quotient zeigte in beiden Bedingungen einen signifikanten Abfall über die gesamte Versuchsdauer ($p < 0,05$ für den time-Effekt für alle Messzeitpunkte). In der Laktatbedingung fiel der ATP/P_i-Quotient von $11,28 \pm 0,40$ zu dem Messzeitpunkt „B1“ auf $9,39 \pm 0,32$ zu dem Messzeitpunkt „Ende“. In der Kontrollbedingung sank der Wert für den ATP/P_i-Quotienten von $11,17 \pm 0,58$ bei der ersten Spektrenmessung (B1) auf $8,89 \pm 0,50$ bei der letzten Spektrenmessung (Ende). Insgesamt konnte über den gesamten Versuchszeitraum kein signifikanter Effekt der Laktatinfusion auf den ATP/P_i-Quotienten des Skelettmuskels festgestellt werden ($p = 0,628$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.3, S. 26). Ein ähnliches Verhalten zeigte auch der PCr/P_i-Quotient: in der Laktatbedingung sank der PCr/P_i-Quotient von $11,96 \pm 0,43$ zu dem Zeitpunkt der ersten Spektrenmessung (B1) auf $9,99 \pm 0,35$ bei der letzten Messung (Ende). In der Kontrollbedingung sank der PCr/P_i-Quotient von $11,74 \pm 0,69$ (B1) auf $8,87 \pm 0,59$ (Ende). Insgesamt ergab sich ein signifikanter Abfall des PCr/P_i-Quotienten über die gesamte Versuchsdauer ($p < 0,05$ für den time-Effekt für alle Messzeitpunkte). Es konnte auch für den PCr/P_i-Quotienten bei Einschluss aller Messzeitpunkte kein signifikanter Einfluss der Laktatinfusion festgestellt werden ($p = 0,054$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.4, S. 26). Die Abbildungen Abb. 3.3, S. 26 und Abb. 3.4, S. 26 zeigen den Verlauf der Quotienten während des Versuches.

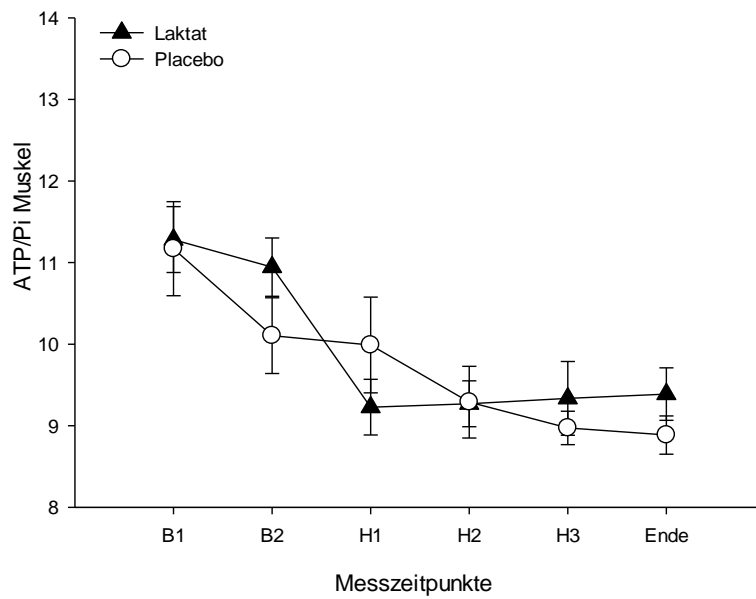


Abb. 3.3: Darstellung der Werte für den ATP/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende in der Muskulatur unter Laktat- und Placebobedingung. Die Darstellung erfolgt als Mittelwerte \pm SEM

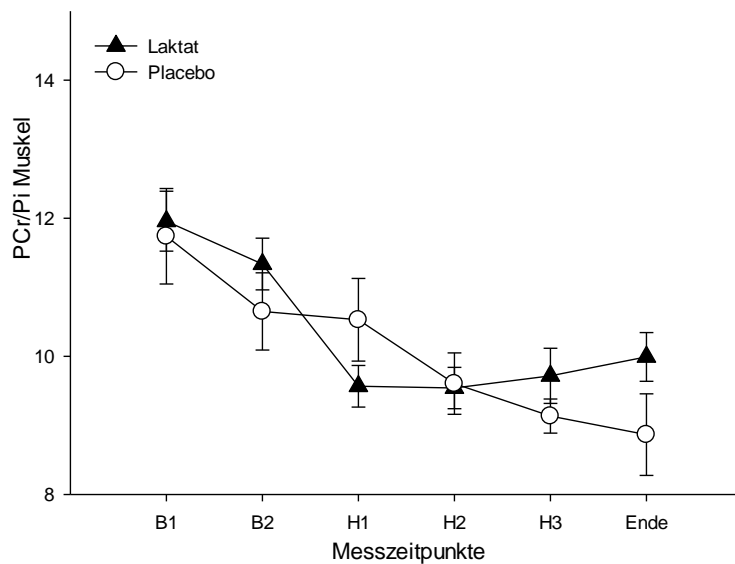


Abb. 3.4: Darstellung der Werte für den PCr/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende in der Muskulatur unter Laktat- und Placebobedingung. Die Darstellung erfolgt als Mittelwerte \pm SEM

3.2 Laboranalysen der Blutentnahmen

3.2.1 Plasma-Glukose und Glukoseinfusionsrate

Während der gesamten Versuchszeit waren die Plasma-Glukosekonzentrationen in beiden Bedingungen vergleichbar ($p = 0,191$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.5, S. 27). Die Blutglukosekonzentration wurde nach den beiden Baselinespektren von $4,77 \pm 0,07$ mmol/l (Laktatbedingung; Start bis B2) beziehungsweise (bzw.) $4,67 \pm 0,07$ mmol/l (Kontrollbedingung; Start bis B2) durch Insulingabe rasch auf $2,45 \pm 0,07$ mmol/l (Laktatbedingung; H1.1-H3.2) bzw. $2,58 \pm 0,08$ mmol/l (Kontrollbedingung; H1.1-H3.2) gesenkt. Auch während des Hypoglykämieplateaus (H1.1-H3.2) waren die Blutzuckerwerte beider Bedingungen gut vergleichbar ($p = 0,771$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für die Messzeitpunkte H1.1-H3.2). Die benötigten Glukoseinfusionsraten waren für beide Bedingungen ähnlich ($p = 0,887$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte).

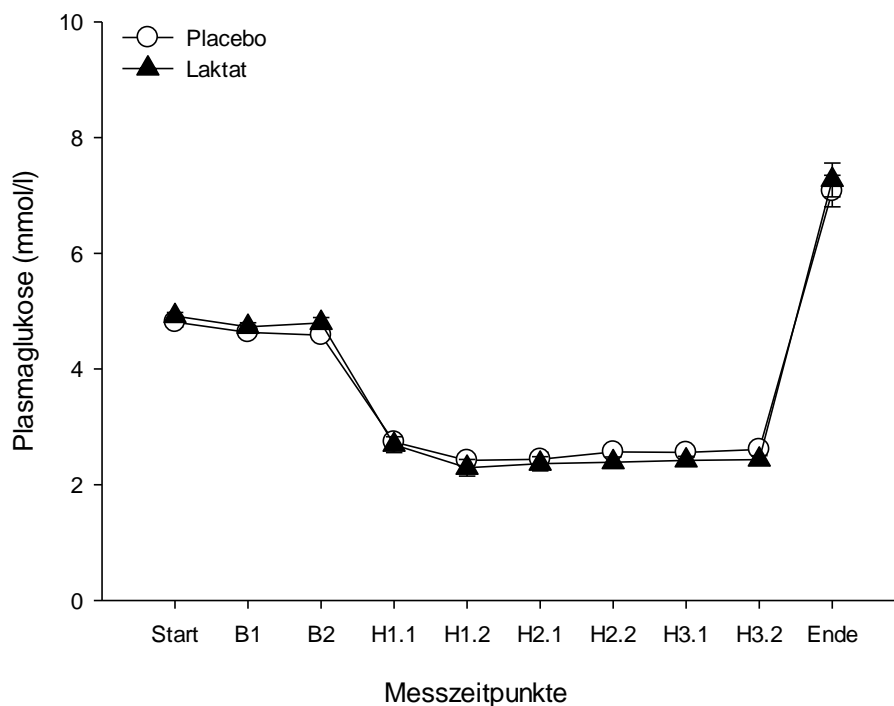


Abb. 3.5: Verlauf der Plasma-Glukosekonzentration (mmol/l \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

3.2.2 Insulin und C-Peptid

Nach der Insulinapplikation zur Einleitung der Hypoglykämie stieg die Serum-Insulinkonzentration von $4,66 \pm 0,77 \mu\text{IU/ml}$ (Laktatbedingung; Start bis B2) bzw. $3,98 \pm 0,62 \mu\text{IU/ml}$ (Kontrollbedingung; Start bis B2) auf $51,94 \pm 1,54 \mu\text{IU/ml}$ (Laktatbedingung; H1.1 bis H3.2) bzw. $57,88 \pm 1,74 \mu\text{IU/ml}$ (Kontrollbedingung; H1.1 bis H3.2). Nachdem die Insulingabe gestoppt wurde, fiel die Insulinkonzentration rasch auf $19,56 \pm 2,67 \mu\text{IU/ml}$ (Messzeitpunkt Ende) in der Laktatbedingung bzw. $17,34 \pm 2,58 \mu\text{IU/ml}$ (Messzeitpunkt Ende) in der Kontrollbedingung. Die Laktatgabe bewirkte, bei Betrachtung der gesamten Versuchsdauer, signifikant niedrigere Insulinspiegel in der Laktatbedingung verglichen mit der Kontrollbedingung ($p < 0,001$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.6, S. 28).

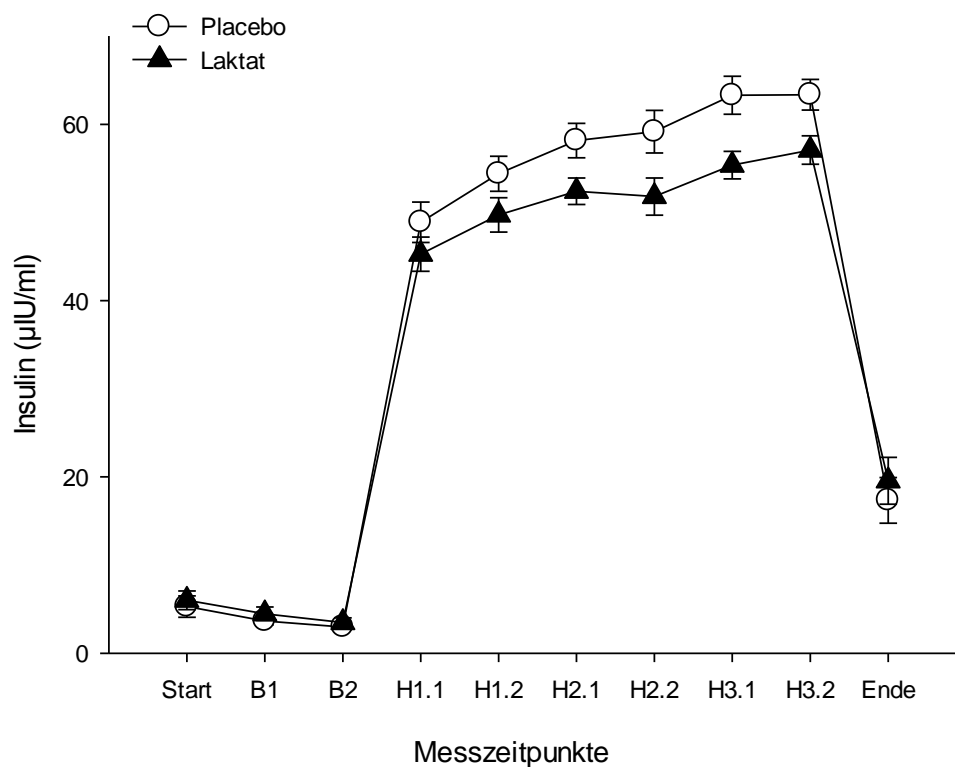


Abb. 3.6: Insulinerumkonzentrationen ($\mu\text{IU/ml} \pm \text{SEM}$) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

Die endogene Insulinproduktion, gemessen als C-Peptidkonzentration, ging unter der exogenen Insulinzufuhr in beiden Bedingungen gleichermaßen zurück ($p = 0,378$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.7, S. 29). Sie setzte nach Beendigung der exogenen Insulinapplikation in beiden Bedingungen zeitgerecht wieder ein, sodass zu Versuchsende Konzentrationen von $1,42 \pm 0,27$ ng/ml in der Laktatbedingung und $1,01 \pm 0,22$ ng/ml in der Kontrollbedingung gemessen wurden.

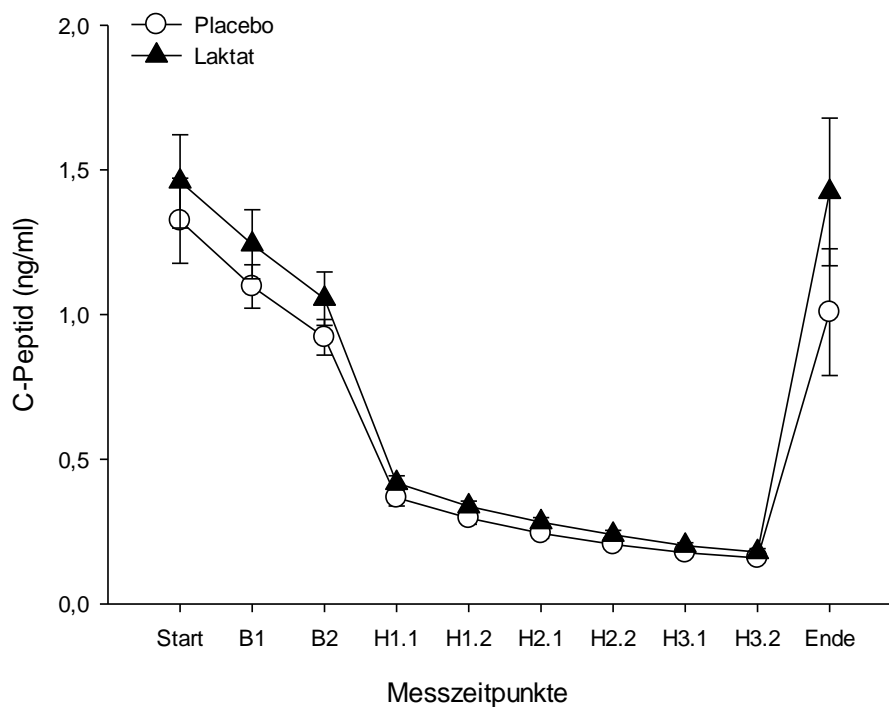


Abb. 3.7: C-Peptid-Konzentrationen (ng/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

3.2.3 Laktat

Durch die Laktatinfusion konnte ein signifikanter Unterschied bezüglich der Laktatplasmakonzentration zwischen den Bedingungen erreicht werden ($p < 0,001$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.8, S. 30). Die Laktatplasmakonzentration wurde in der Laktatbedingung von $0,86 \pm 0,06$ mmol/l (Start bis B1) auf $3,57 \pm 0,13$ mmol/l (B2 bis Ende) angehoben; in der Kontrollbedingung stieg die Laktatkonzentration von $0,83 \pm 0,46$ mmol/l (Start bis B1) auf $1,14 \pm 0,85$ mmol/l (B2 bis Ende) an.

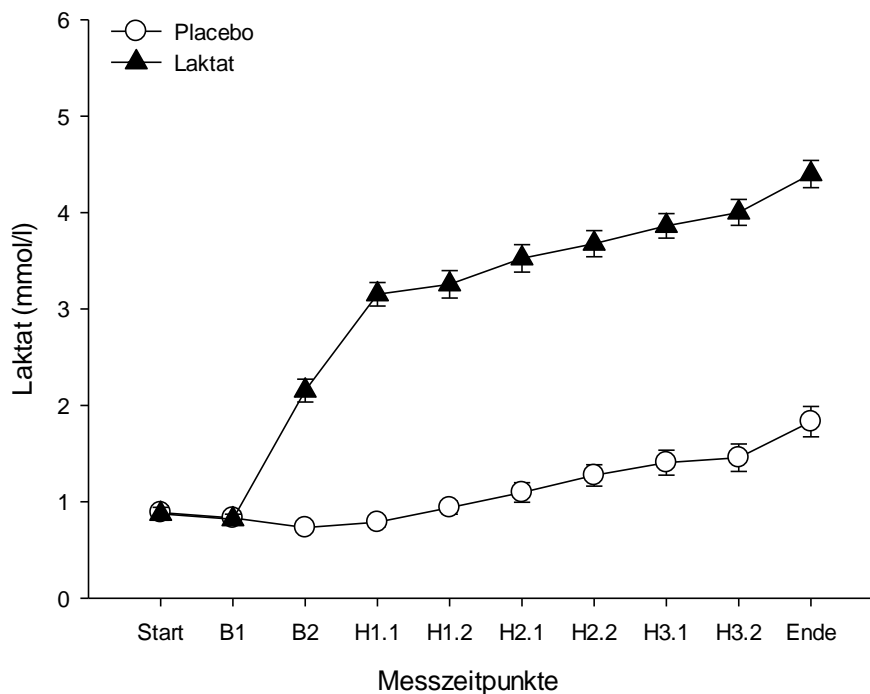


Abb. 3.8: Laktatplasmakonzentrationen (mmol/l \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

3.2.4 Gegenregulatorische Hormone

In ANOVA Analysen, die alle Messzeitpunkte einschlossen, zeigten sich für die Laktatbedingung signifikant niedrigere Konzentrationen aller gegenregulatorischen Hormone verglichen mit der Kontrollbedingung. Durch die Hypoglykämie stieg die Plasmakonzentration von Adrenalin in der Kontrollbedingung stark von $30,77 \pm 2,59$ pg/ml (Start bis B2) auf $439,33 \pm 49,61$ pg/ml (H1.1 bis H3.2) an. Der Anstieg der Adrenalinkonzentration in der Laktatbedingung war deutlich geringer: von $39,75 \pm 7,12$ pg/ml auf $307,06 \pm 35,97$ pg/ml. Der gegenregulatorische Anstieg des Adrenalins wurde durch die Laktatinfusion signifikant abgemildert ($p < 0,001$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte; s. Abb. 3.9, S.31).

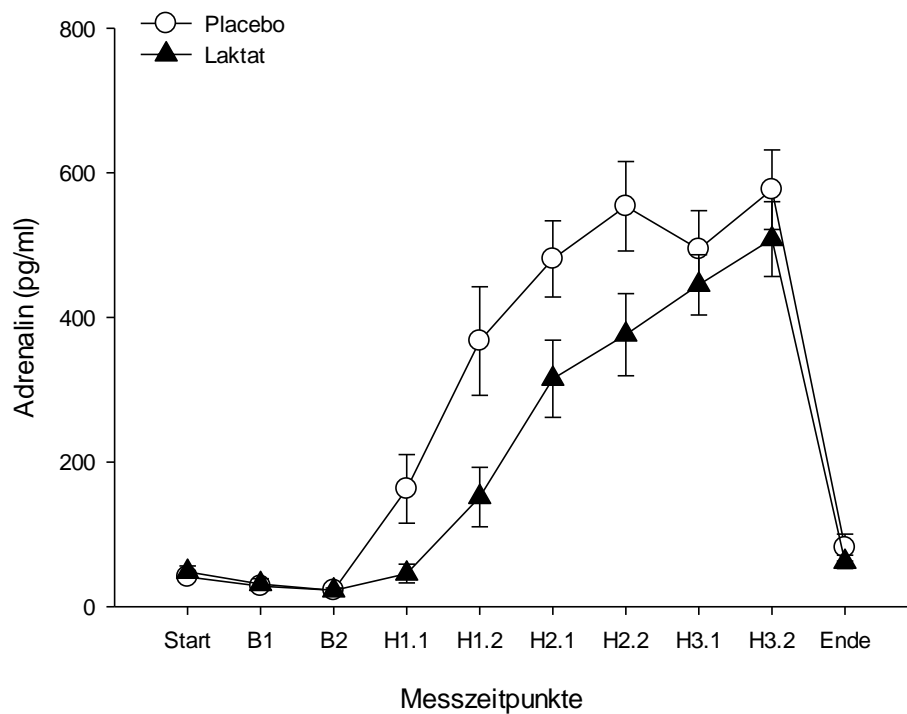


Abb. 3.9: Adrenalinkonzentration (pg/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

Nach einem ausgeprägten initialen Abfall der NoradrenalinKonzentration, stiegen die Werte während der Hypoglykämie in der Kontrollbedingung mäßig an: von $229,91 \pm 16,90$ pg/ml in der Normoglykämie (Start bis B2) auf $247,57 \pm 22,79$ pg/ml während der Hypoglykämie (H1.1 bis H3.2). Unter Laktatgabe war sogar insgesamt ein Abfall der Plasmakonzentration von $266,43 \pm 26,35$ pg/ml in der Normoglykämie auf $197,27 \pm 17,98$ pg/ml während der Hypoglykämie zu verzeichnen. Insgesamt bewirkte die Laktatinfusion auch für Noradrenalin eine signifikant abgeschwächte Gegenregulation in der Laktatbedingung ($p < 0,001$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte; s. Abb. 3.10, S. 32).

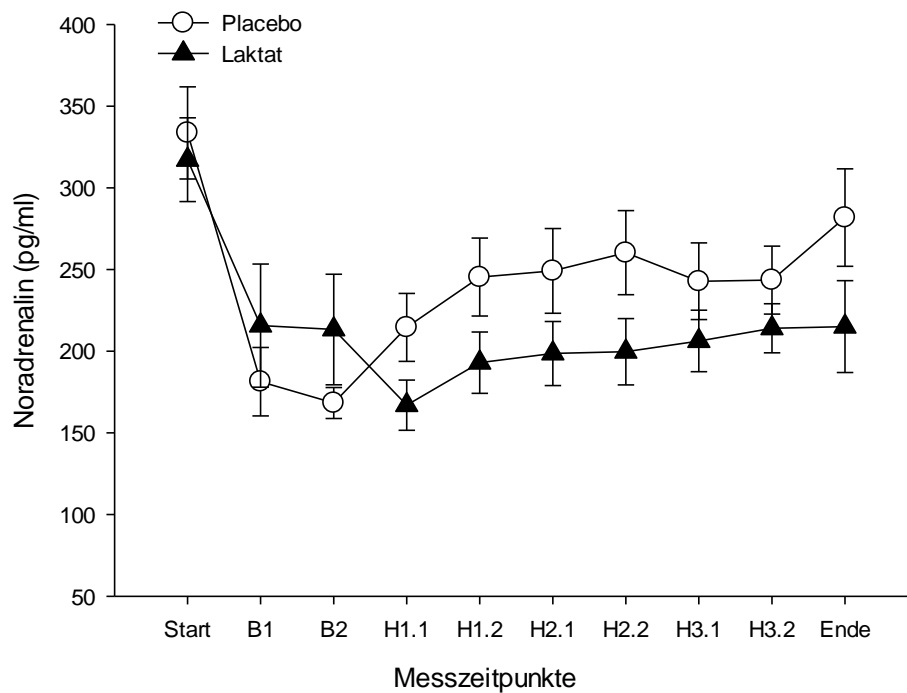


Abb. 3.10: NoradrenalinKonzentration (pg/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

Es konnte eine signifikant abschwächende Wirkung der Laktatinfusion auf den Anstieg des Kortisols nachgewiesen werden. In der Kontrollbedingung stieg die Kortisolkonzentration von $7,83 \pm 0,64 \mu\text{g/dl}$ in der Normoglykämie (Start bis B2) auf $12,78 \pm 0,90 \mu\text{g/dl}$ während des hypoglykämischen Plateaus (H1.1 bis H3.2). In der Laktatbedingung fiel der Anstieg des Kortisols geringer aus: hier wurden bei Ausgangswerten von $9,57 \pm 1,29 \mu\text{g/dl}$ in der Normoglykämie Werte von $10,95 \pm 1,30 \mu\text{g/dl}$ in der Hypoglykämie erreicht. Wie schon für die Katecholamine, zeigte die Laktatgabe für die Kortisolausschüttung einen signifikant abmildernden Effekt ($p < 0,001$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte; s. Abb. 3.11, S. 33).

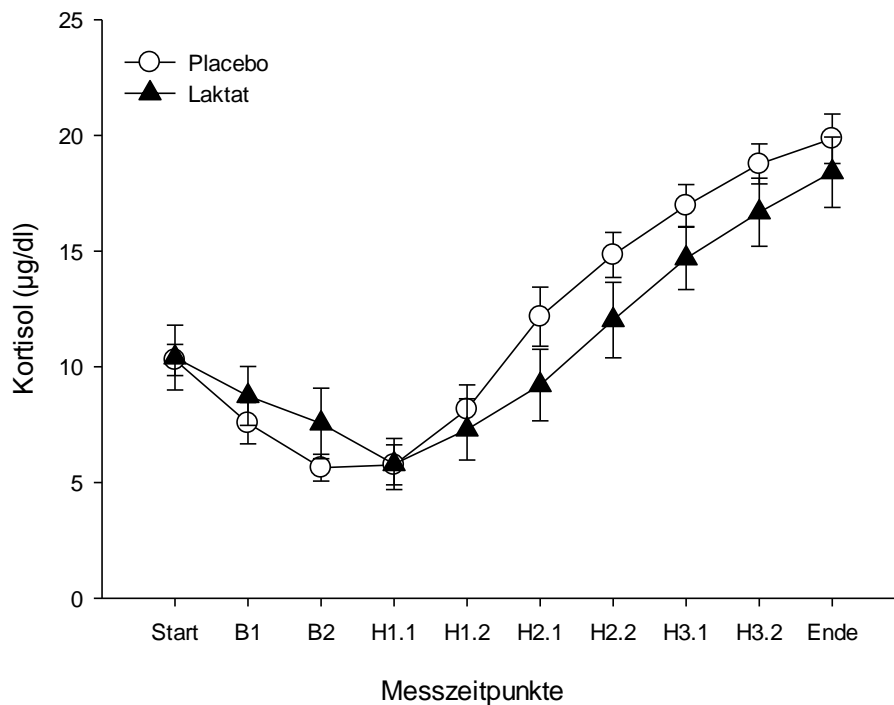


Abb. 3.11: Serum-Kortisolkonzentration ($\mu\text{g/dl} \pm \text{SEM}$) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

Ein ähnliches Muster wie für die oben genannten gegenregulatorischen Hormone, das heißt ein signifikanter Anstieg während der Hypoglykämie, aber Milderung des Anstiegs durch Laktatgabe, konnte auch für ACTH nachgewiesen werden. Hier zeigte sich ein Anstieg von $11,31 \pm 1,12$ pg/ml (Start bis B2) auf $46,61 \pm 5,13$ pg/ml (H1.1 bis H3.2) in der Kontrollbedingung bzw. von $13,98 \pm 2,23$ pg/ml (Start bis B2) auf $37,23 \pm 7,90$ pg/ml (H1.1 bis H3.2) in der Laktatbedingung. Bei Betrachtung der gesamten Versuchsdauer zeigte sich ein signifikant abschwächender Effekt der Laktatinfusion auf die Ausschüttung von ACTH ($p < 0,001$ für den Interaktionseffekt „treat x time“ für alle Messzeitpunkte, s. Abb. 3.12, S. 34).

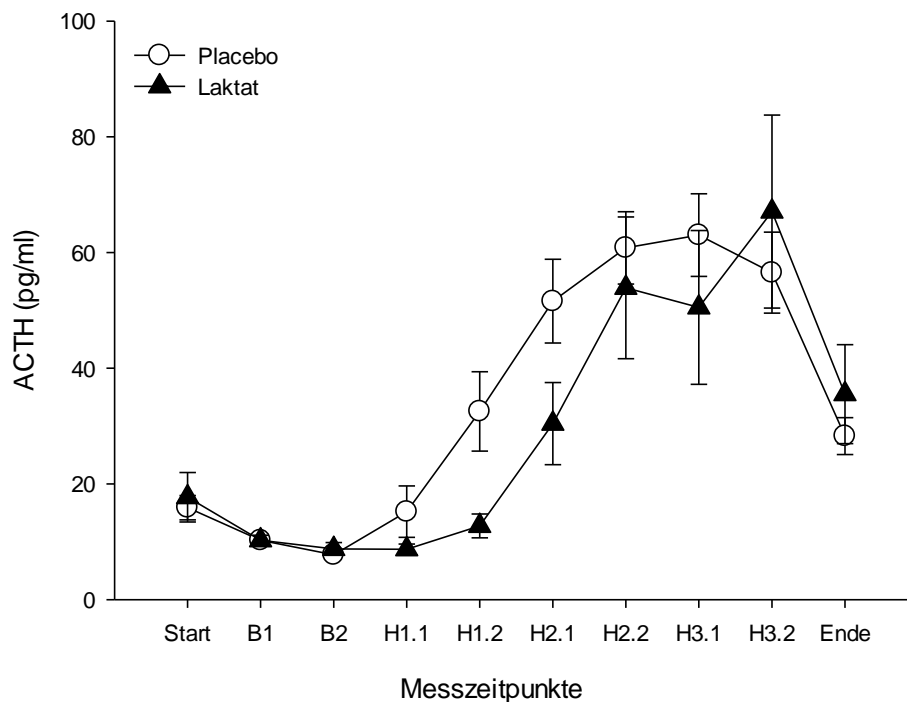


Abb. 3.12: ACTH-Konzentration (pg/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende

4 Diskussion

Die Ergebnisse zeigen, dass Laktat in der Normoglykämie einen additiven Effekt auf das zerebrale ATP und PCr hat. Für die Hypoglykämie konnte kein Einfluss von Laktat auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate gezeigt werden. Dennoch war der Einfluss des Laktats auf den Hirnstoffwechsel ausreichend hoch, um die neuroendokrine gegenregulatorische Antwort auf eine Hypoglykämie abzuschwächen. Der Skelettmuskel zeigte keine Änderung der energetischen Versorgung durch die Laktatinfusion.

4.1 ³¹Phosphor-Magnetresonanz-Spektren des Gehirns

In der vorliegenden Studie konnten signifikant höhere zerebrale Hochenergie-Phosphate als Effekt einer Laktatgabe während der Normoglykämie gezeigt werden. Vorangehende Studien konnten nachweisen, dass das Gehirn in der Lage ist, flexibel auf ein variierendes Substratangebot zu reagieren und seinen eigenen Energiegehalt bei sich ändernden Blutglukosekonzentrationen zu erhöhen (86). Ist die systemische Blutzuckerkonzentration erniedrigt, kann das Gehirn die Glukoseaufnahme steigern (110). Entsprechend kann das Gehirn seinen Laktatverbrauch der systemischen Laktatverfügbarkeit anpassen. So nimmt das Gehirn bei starker körperlicher Betätigung und entsprechender zerebraler Aktivität mit steigender Laktatplasmakonzentration vermehrt Laktat auf (32, 44, 61, 99). Boumezbeur et al. fanden 2010 in einer ¹³Kohlenstoff-Magnetresonanz-Spektroskopie (¹³C-MRS) bei Plasma-Laktatkonzentrationen im physiologischen Bereich eine annähernd positiv lineare Korrelation zwischen Plasma-Laktatkonzentration und zerebraler Laktataufnahme (Zielvolumen Okzipitallappen) in körperlicher und geistiger Ruhe (17). Diese Studie bestätigte das schon 2009 von van Hall et al. gefundene Ergebnis, dass bei physiologischen Blutlaktatkonzentrationen Laktat bis zu 8 % zum zerebralen Energieverbrauch beiträgt, wohingegen bei artifiziell erhöhten Blutlaktatkonzentration von 3,9 mmol/l, ähnlich zu den induzierten Werten in unserer Studie (s. Kapitel 3.2.3 Laktat, S. 30), ein Anteil von bis zu 19 % des zerebralen Energieverbrauchs durch Laktat bestritten wird (121). Die Laktataufnahme in das Gehirn während einer Normoglykämie ist folglich ein von der Blutlaktatkonzentration abhängiger Vorgang. In das Gehirn aufgenommenes Laktat ergänzt in einer solchen Konstellation Glukose und hat einen additiven Effekt auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate ATP und PCr. Die Ergebnisse unserer Studie sind

somit im Einklang mit den Ergebnissen früherer Studien. Dementsprechend ist der signifikante Anstieg des zerebralen ATP/P_i-Quotienten bei gesteigerter Laktatplasmakonzentration in der Normoglykämie wahrscheinlich durch eine gesteigerte zerebrale Aufnahme und Metabolisierung von Laktat bedingt.

Insbesondere in Situationen mit verminderter systemischer Glukoseverfügbarkeit steigt die zerebrale Laktatextraktion (52, 73, 78). Insofern ist es erstaunlich, dass in der vorliegenden Studie entgegen der ausgangs formulierten Hypothese (s. Kapitel 1.5 Fragestellung und Hypothesen, S. 14) kein Einfluss der Laktatinfusion auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate während der Hypoglykämie nachgewiesen werden konnte. Bisher wurden in klinischen Studien während einer Hypoglykämie konstant bleibende (57, 104) oder gar ansteigende (86), während einer Hyperglykämie steigende zerebrale Hochenergie-Phosphate gemessen (86). Erst bei sehr niedrigen Blutzuckerkonzentrationen von 1,2 mmol/l im Tierversuch wurden sinkende Konzentrationen von ATP und PCr gemessen (97). Erhöhte Blutlaktatkonzentrationen führen zu vermehrter zerebraler Laktataufnahme mit konsekutiv reduziertem zerebralen Glukoseverbrauch (113, 121). Erste in vivo Studien an Ratten konnten eine von der Laktatplasmakonzentration abhängige Reduktion des zerebralen Glukoseverbrauchs bei experimentell gesteigerten Laktatplasmakonzentrationen nachweisen (127). Ein reduzierter zerebraler Glukoseverbrauch bei ausreichendem Angebot von Laktat während einer Hypoglykämie würde so zur Schonung der knappen Ressource Glukose beitragen. Möglicherweise nimmt das Gehirn bei adäquatem alternativen Substratangebot während einer Hypoglykämie keine zusätzliche Energie auf, sondern erhöht den prozentualen Anteil an Laktat in seinem Energiesubstratpool und vermindert konsequenterweise den Anteil an Glukose, welche dann weiterhin systemisch zur Verfügung steht. Dies würde den fehlenden Anstieg der zerebralen ATP/P_i- und PCr/P_i-Quotienten während der Hypoglykämie in der Laktatbedingung erklären.

Alternativ könnte ein gesteigerter zerebraler Energieverbrauch während der Hypoglykämie ursächlich für den fehlenden Effekt des Laktats auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate sein. Sinkende systemische Glukosespiegel führen entsprechend dem Selfish-Brain-Modell über eine simultan erniedrigte zentrale Blutzuckerkonzentration zur Initiierung einer neuroendokrinen Gegenregulation (83), um die Versorgung des Gehirns mit adäquaten Energiesubstraten zu sichern. Die Bereitstellung ausreichender Energiesubstrate für das Gehirn durch die Peripherie während einer systemischen Hypoglykämie ist ein aktiver, durch zerebrale Aktivität vermittelter Vorgang, der zentral über eine glutamaterge

Neuronenpopulation kommuniziert wird (91, 118). Das Ausmaß neuronaler glutamaterger Aktivität zur Aktivierung der Stressachsen ist abhängig vom zerebralen ATP-Gehalt. Auf Neuronen befinden sich hoch- und niedrigaffine ATP-sensitive Kaliumkanäle (K_{ATP}) (64, 94, 116). ATP schließt diese Kaliumkanäle und begünstigt so eine Depolarisation: die Erregbarkeit der Neuronen wird durch die Verfügbarkeit von ATP gefördert (71). Hochaffine K_{ATP} - hier bindet ATP, auch wenn es in niedrigen Konzentrationen vorliegt - sind vorwiegend auf glutamatergen Neuronen lokalisiert (70); niedrigaffine K_{ATP} - hier bindet ATP nur in hohen Konzentrationen - finden sich vorwiegend auf hemmenden, GABA-ergen (auf γ -Aminobuttersäure reagierenden) Neuronen (94). Eine milde ATP-Mangelsituation (ATP liegt in geringer Konzentration vor) führt somit zu einer verstärkten glutamatergen neuronalen Aktivität. Glutamaterge neuronale Aktivität ist ein energieverbrauchender Prozess: etwa 80 % des gesamten zerebralen Energieverbrauchs wird auf glutamaterge Aktivität zurückgeführt (6). Möglicherweise war also der neuronale Energiebedarf für die Kommunikation der hormonellen Gegenregulation, auch wenn diese in der Laktatbedingung signifikant schwächer war, größer, als der additive Effekt des Laktats auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate.

Entsprechend führt die Rückkehr in den Ruhezustand nach Aufhebung der Hypoglykämie, gemeinsam mit der jetzt wieder ausreichend verfügbaren Glukose und dem weiterhin vorhandenen Laktat, zu den nach Ende der Hypoglykämie in der Laktatbedingung signifikant höheren zerebralen Hochenergie-Phosphaten. Die jetzt im Überschuss vorhandenen Energieäquivalente könnten zur Auffüllung von während der Hypoglykämie entleerten Energiespeichern genutzt werden, wie im Folgenden dargestellt wird. Dalsgaard et al. zeigten 2004, dass nach starker körperlicher Anstrengung zusätzliche aufgenommene Glukose und Laktat zerebral nicht umgehend oxidiert werden (32). Laktat kann bei Aglykämie zwar neuronale Aktivität aufrechterhalten, eine Entleerung der Glykogenspeicher wird trotz des ausreichenden Laktatangebots jedoch nicht verhindert (22). Obwohl die Glykogenreserven des Gehirns lange als zu gering erachtet wurden, um eine wichtige Rolle zu spielen, gibt es neuere Arbeiten, die dem zerebralen Glykogenmetabolismus eine wichtigere Rolle als bisher gedacht einräumen (45). Choi et al. konnten 2003 zeigen, dass nach einer Hypoglykämie mit progressiver Entleerung zerebraler Glykogenspeicher die Konzentration von Glykogen in der Erholungsphase bei ausreichendem Substratangebot um ein Mehrfaches über den Ausgangswert stieg; ein Effekt, der zuvor schon für andere Organe wie Skelettmuskel, Leber und Herz gezeigt werden konnte und „Super-Kompensation“ genannt wurde (27). Dieses Ergebnis stimmt

gut mit den stark angestiegenen ATP/P_i- und PCr/P_i-Quotienten der Laktatbedingung in unserer Studie überein und lässt die Vermutung zu, dass die hohen Konzentrationen zerebraler Hochenergie-Phosphate in einem Zusammenhang mit der Glykogensynthese stehen könnten. Allerdings ist die Glykogensynthese ein ATP-verbrauchender Prozess: sie wird hier also nicht direkt durch die angestiegenen Quotienten ATP/P_i und PCr/P_i abgebildet. Da sich die Blut-Laktatkonzentration nach Beendigung der Hypoglykämie nicht änderte, die Blut-Glukosekonzentration jedoch von hypoglykämischen auf euglykämische Werte angehoben wurde, ist es wahrscheinlich, dass die höheren Werte der Quotienten ATP/P_i und PCr/P_i in der Laktatbedingung in Zusammenhang mit der Oxidation von Glukose stehen. Es ist denkbar, dass durch das rasch gesteigerte Angebot an Glukose während der Regeneration des Blutzuckerspiegels auf euglykämische Werte kurzfristig mehr Glukose zerebral aufgenommen und initial oxidiert wurde. Oltmanns et al. konnten einen signifikanten Anstieg zerebraler Hochenergie-Phosphate nach einer kurzen, durch Dextroseinfusion induzierten Hyperglykämie nachweisen (86). Kurzfristige Zunahmen des BZ werden vom Gehirn demnach mit gesteigerter oxidativer Stoffwechselaktivität beantwortet. Die hierbei generierten Energieäquivalente stünden anschließend für den energieverbrauchenden Prozess der Glykogensynthese aus Glukose zur Verfügung. In der vorliegenden Studie waren die ATP/P_i- und PCr/P_i-Quotienten in der Laktatbedingung bei vergleichbarem Glukoseangebot in beiden Bedingungen während der Erholungsphase nach einer Hypoglykämie signifikant höher. Laktat ist möglicherweise, über einen bisher nicht näher identifizierten Mechanismus, in der Lage, dem Gehirn eine bessere Ausgangslage für die schnelle Regeneration seiner Energiespeicher nach einer Hypoglykämie zu bieten. Diese würden dann dem Gehirn bei einer erneuten Hypoglykämie die Energieversorgung vorübergehend sichern.

Der exakte Verbleib von Glukose und Laktat konnte in unserer Studie nicht geklärt werden. Dazu müssten Spektroskopien mit unterschiedlichen Isotopen (beispielsweise ¹H-Wasserstoff-Magnetresonanz-Spektroskopie (¹H-MRS) oder ¹³C-MRS) zur Identifizierung einzelner Stoffwechselprodukte zum Einsatz kommen. Die hier angewandte Methodik ermöglicht nur indirekte Schlussfolgerungen der Laktatwirkung. Die Hochenergie-Phosphate zeigen Stoffwechselprozesse auf, die nicht exklusiv durch Metabolisierung von Laktat zustande kommen. Vielmehr wird die Endstrecke jeglicher zellulärer Energiegewinnung abgebildet. Zudem könnte in folgenden Studien eine längere Beobachtungsphase nach Ende der Hypoglykämie zur weiteren Klärung der Dynamik zerebraler Hochenergie-Phosphate während einer Laktatinfusion beitragen.

4.2 ³¹P-Phosphor-Magnetresonanz-Spektren der Skelettmuskulatur

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass eine Laktatinfusion während einer Hypoglykämie keinen Einfluss auf den muskulären Hochenergie-Phosphatstoffwechsel im ruhenden Skelettmuskel hat. Die Konzentrationen der Quotienten ATP/P_i und PCr/P_i waren für beide Bedingungen vergleichbar, wobei die Werte für beide Quotienten über die Dauer des Versuchs signifikant abnahmen. Es ist bekannt, dass die Skelettmuskulatur in Ruhe Laktat aufnimmt, gleichzeitig aber auch Laktat abgibt, wobei netto eine langsame Laktatabgabe resultiert (12, 41). Ein ähnliches Verhalten findet sich auch während Muskularbeit, wobei die Laktataufnahme jeweils positiv linear zu den Plasma-Laktatkonzentrationen korreliert. Das Paradox der simultanen Laktataufnahme und -abgabe liegt vermutlich in der Zusammensetzung des Muskels aus unterschiedlichen Fasertypen begründet. Die langsamen, vorwiegend oxidativen Typ-I-Muskelfasern nehmen Laktat auf und oxidieren es, die schnellen, vorwiegend glykolytischen Typ-II-Muskelfasern geben Laktat ab (117). Wird der Blutlaktatspiegel, beispielsweise durch eine Laktatinfusion, angehoben, wechselt der Skelettmuskel von einer Netto-Laktatabgabe schnell zu einer Netto-Laktataufnahme (43). Ein Großteil des vom arbeitenden Muskel aufgenommenen Laktats wird oxidiert; in Ruhe spielt die oxidative Metabolisierung von Laktat, ebenso wie die Speicherung als Glykogen, jedoch eine untergeordnete Rolle. Vielmehr scheint der ruhende Skelettmuskel ein passives Depot für die Kohlenstoffverbindungen des Laktats zu sein (65). Auch wenn, wie in der vorliegenden Studie, bei einer erhöhten Laktatplasmakonzentration vermehrt Laktat in den Muskel aufgenommen wird, führt dies nicht unmittelbar zu einer konsekutiv gesteigerten Laktatoxidation (82); dies könnte darin begründet sein, dass die Laktatinfusion keine Änderung des muskulären Ruheumsatzes herbeiführt (65).

Ohnehin ist der Anteil des Kohlenhydratstoffwechsels am muskulären Energieumsatz in Ruhe sehr gering (21). Ein ruhender Skelettmuskel bezieht ca. 80 % der benötigten Energie aus Fettsäureoxidation (38); insofern haben Änderungen im Kohlenhydratstoffwechsel nur einen geringen Anteil am muskulären Energieumsatz in Ruhe.

Die Effekte einer Laktatinfusion wurden in dieser Studie während einer insulininduzierten Hypoglykämie untersucht. Insulin induziert eine, über GLUT 4 vermittelte, Glukoseaufnahme in den Skelettmuskel und fördert dort Glykolyse und Glykogensynthese (60). Dementsprechend wären zunächst binnen einer Hyperinsulinämie, wie sie in dieser

Studie induziert wurde, korrespondierend steigende Konzentrationen der muskulären Hochenergie-Phosphate ATP und PCr zu erwarten. Eine konsekutiv aus der Hyperinsulinämie resultierende Hypoglykämie, wie sie in der vorliegenden Studie unmittelbar eintrat, setzt die Insulinwirkung aber umgehend außer Kraft (88); sie bewirkt vielmehr eine muskuläre Insulinresistenz (23). Dieser Effekt wird entscheidend durch die insulinantagonisierende Wirkung des Adrenalins vermittelt (24). Capaldo et al. konnten (24) zeigen, dass die insulinvermittelte, muskuläre Glukoseaufnahme während einer systemischen Hypoglykämie durch die β -adrenerge Wirkung von Adrenalin unterbunden wird. Hierbei handelt es sich um Wirkungen direkt an der Muskelzelle, welche das Glukosetransportsystem sowie die Schlüsselenzyme des Glukosemetabolismus beeinflussen (26, 100, 114). Die während einer Hypoglykämie ebenfalls adrenerg vermittelte Drosselung der pankreatischen Insulinsekretion (49, 63), welche zur Verminderung der muskulären Glukoseaufnahme führt, spielt in der vorliegenden Studie auf Grund der kontinuierlichen exogenen Insulinapplikation eine untergeordnete Rolle. Von Capaldo et al. wurden während des gesamten Versuchs Adrenalinkonzentrationen < 500 pg/ml gemessen. In unserer Studie zeigten sich in der Laktatbedingung signifikant geringere Adrenalinkonzentrationen als in der Kontrollbedingung. Dennoch wurden in der Laktatbedingung maximale Adrenalinkonzentrationen von 508,44 pg/ml (Messzeitpunkt H3.2) gemessen (s. Kapitel 3.2.4 Gegenregulatorische Hormone, S. 31.). Es ist also anzunehmen, dass in beiden Bedingungen gleichermaßen die insulinvermittelte Wirkung am Skelettmuskel durch die adrenergen Mechanismen der Hypoglykämie aufgehoben wurde. Die adrenerge Hemmung der Insulinwirkung ist ein in der Literatur schon vielfach beschriebener Mechanismus (23, 24, 26, 100). In der vorliegenden Studie wurde die systemisch zirkulierende Glukose während der Hypoglykämie also nicht über den GLUT 4 in den Skelettmuskel aufgenommen, was sich in den über die gesamte Versuchsdauer signifikant gesunkenen muskulären Hochenergie-Phosphaten widerspiegelt. Stattdessen steht Glukose weiterhin systemisch zur Verfügung und kann dann - insulinunabhängig - über den GLUT 1 in das Gehirn aufgenommen werden.

Adrenalin reduziert bei erhöhten Laktatplasmakonzentrationen auch die Laktataufnahme in den Skelettmuskel (46), weswegen in der vorliegenden Studie wahrscheinlich keine relevanten Laktatmengen, trotz erhöhter Plasma-Laktatkonzentrationen in der Laktatbedingung, muskulär aufgenommen wurden. Meyer et al. fanden 2005, dass die Skelettmuskulatur während einer Hypoglykämie Laktat als Beitrag zur hypoglykämischen Gegenregulation in die systemische Blutzirkulation abgibt (81). Der Skelettmuskel trägt so

während einer Hypoglykämie durch eine verminderte muskuläre Glukoseaufnahme zusammen mit einer vermehrten Laktatabgabe zur Steigerung der systemischen Verfügbarkeit zerebraler Energiesubstrate bei.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die vom Gehirn gesteuerten gegenregulatorischen Mechanismen in der Laktatbedingung zwar abgeschwächt, aber an der Skelettmuskulatur nicht wirkungslos waren. Sie haben sowohl die insulinvermittelte Glukoseaufnahme als auch eine durch erhöhte systemische Laktatkonzentration begünstigte Laktataufnahme in den Muskel verhindert.

4.3 Hormonelle Gegenregulation

Es ist ein schon vielfach bestätigtes Ergebnis, dass intravenöse Laktatgabe in der Lage ist, die hormonelle gegenregulatorische Antwort auf eine Hypoglykämie, vermittelt durch Adrenalin, Noradrenalin und Kortisol, abzuschwächen (67, 76, 103, 124). Entsprechend führt auch die Perfusion des als Steuerungszentrum bekannten VMH mit Laktat während einer systemischen Hypoglykämie zu einer abgemilderten endokrinen Gegenregulation (15). Die sich im VMH befindenden glukoseaktivierten Neuronen (71, 115) bewirken bei niedriger Glukosekonzentration eine Aktivierung des SNS (16). Laktat ist in der Lage, die für die Aktivierung des SNS verantwortliche Öffnung des K_{ATP} -Kanals auf glukoseaktivierten Neuronen zu verhindern und so die Wirkung reduzierter Glukosespiegel zu antagonisieren (116). Auffallend in unseren Ergebnissen ist der starke Abfall der Noradrenalinkonzentration in beiden Bedingungen zwischen den Messzeitpunkten „Start“ und B1 (s. Abb. 3.10, S. 32). Noradrenalin ist ein bei starker emotionaler Anspannung ausgeschüttetes Hormon und wirkt vorwiegend vasokonstriktorisch. Am ehesten lässt sich der initiale Abfall von Noradrenalin auf die sich lösende Anspannung der Probanden zu Beginn des Versuchs erklären. Die Nervosität vor dem unbekanntem Setting hat möglicherweise zu einer psychischen Anspannung, verknüpft mit einer gesteigerten Noradrenalinausschüttung, geführt, die nach Versuchsbeginn stark nachgelassen hat.

Interessanterweise hat sich die abgeschwächte Gegenregulation in der Laktatbedingung nicht in einem erhöhten systemischen Glukosebedarf niedergeschlagen. Die Glukoseinfusionsraten unter beiden Bedingungen waren vergleichbar. Jedoch waren die Insulinkonzentrationen während der Hypoglykämie in der Laktatbedingung signifikant niedriger als in der Kontrollbedingung. Bei abgeschwächter Gegenregulation in der

Laktatbedingung wurde in vorangehenden Studien eine höherer Glukoseverbrauch, resultierend aus einer geringeren Mobilisierung endogener Glukosevorräte und einer erhaltenen muskulären Glukoseaufnahme, gemessen (15, 103). Die muskuläre Glukoseaufnahme in Ruhe erfolgt insulinabhängig über den GLUT 4 (111). Bei geringerer Serum-Insulinkonzentration in der Laktatgruppe ist von einer geringeren muskulären Glukoseaufnahme im Vergleich zu der Kontrollgruppe auszugehen. Bei gleichen Glukoseinfusionsraten in beiden Gruppen und geringerer muskulärer Glukoseaufnahme in der Laktatbedingung, steht in der Laktatgruppe folglich mehr Glukose in der systemischen Zirkulation zur Verfügung. Diese kann dann insulinunabhängig über den GLUT 1 zerebral aufgenommen werden (80). Laktat ist so in der Lage, mittels einer reduzierten Insulinkonzentration eine Umverteilung der Glukose in Richtung Gehirn zu bewirken.

Nun stellt sich die Frage nach dem Verbleib des Insulins in der Laktatbedingung. Insulin wurde in beiden Bedingungen in der gleichen Menge infundiert. Die sich nicht unterscheidenden C-Peptidkonzentrationen beider Bedingungen sprechen für eine gleichermaßen supprimierte endogene Insulinsekretion. Somit ist von einem Effekt des Laktats auf das exogen zugeführte Insulin auszugehen. Von anderen Arbeitsgruppen wurde kein Einfluss von Laktat auf Insulinkonzentrationen während einer Hypoglykämie gesehen (67, 76). Auch konnte gezeigt werden, dass Laktat keinen Einfluss auf die pankreatische Insulinausschüttung hat (103). Es ist jedoch bekannt, dass Laktat die Insulinsensitivität erhöht (38, 103). Es ist also denkbar, dass Insulin in der Laktatbedingung zunächst vermehrt an seinen Rezeptor, ein transmembranäres Glykoprotein, gebunden hat. Die gleichzeitig durch Insulingabe eingeleitete Hypoglykämie hat die Wirkung von Insulin auf die Muskel-Glykogensynthese aber nahezu aufgehoben und verhinderte die insulinabhängige muskuläre Glukoseaufnahme (88), ein Effekt, der sich in den kontinuierlich sinkenden ATP/P_i- und PCr/Pi-Quotienten der Muskelspektren unserer Studie widerspiegelt. Das gebundene Insulin liegt wegen der Bindung an den Rezeptor aber nicht mehr frei im Blut vor und führt daher in der Laboranalyse zu verminderten Insulinserkonzentrationen. Die zweite Möglichkeit wäre, dass Insulin in der Laktatgruppe schneller abgebaut wurde. Für einen gesteigerten Metabolismus bietet die vorliegende Studie jedoch keinen Hinweis.

Die Frage, warum zwar die vom VMH induzierte hormonelle Gegenregulation durch Laktat abgeschwächt wurde, in dem spektroskopischen Zielvolumen im Okzipitallappen jedoch kein Einfluss des Laktats während der Hypoglykämie gefunden wurde, konnte in

der vorliegenden Studie nicht geklärt werden. In folgenden Studien könnten vergleichende Messungen regionale Unterschiede in dem zerebralen Hochenergie-Phosphatstoffwechsel aufdecken. Eine interessante Zielregion wäre sicherlich der Hypothalamus, von dem ausgehend die Prozesse zur neuroendokrinen Gegenregulation gesteuert werden.

4.4 Fazit, klinische Relevanz, Perspektive

Zusammenfassend wurde in unserer Studie gezeigt, dass Laktat einen additiven Effekt auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate während einer Normoglykämie hat. Während einer Hypoglykämie dämpft Laktat signifikant die neuroendokrine Stressantwort. Trotz gedämpfter Stressantwort mit entsprechend geringerer Mobilisation endogener Glukosevorräte bleiben die zerebralen Hochenergie-Phosphate während der Hypoglykämie mit denen der Kontrollbedingung vergleichbar, ein gewisser neuroprotektiver Effekt ist also auch hier darstellbar. Auf den Hochenergie-Phosphatstoffwechsel des Skelettmuskels hatte die Laktatinfusion keinen Einfluss. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit der Selfish-Brain-Theorie: das Gehirn als übergeordnetes Regulationsorgan hat sich seine eigene Energieversorgung während der Hypoglykämie gesichert und sich nach Ende der Hypoglykämie sogar eine zunächst überschießende energetische Versorgung verschafft. Die Skelettmuskulatur hingegen dient passiv der Forderung nach Aufrechterhaltung einer ausreichenden systemischen Blutglukose. Diese Forderung wird vom Gehirn über die Inkretion gegenregulatorischer Hormone kommuniziert.

Die Ergebnisse dieser Studie könnten insbesondere von Relevanz für Patienten mit Diabetes mellitus sein. Denn Hypoglykämien kommen am häufigsten bei Diabetes-Patienten vor, wobei relative oder absolute Überdosierungen von Insulin oder oralen insulinotropen Antidiabetika hier die entscheidende Rolle spielen (4). Die Therapie einer Hypoglykämie besteht in der exogenen Glukosezufuhr, je nach Bewusstseinszustand oral oder intravenös. Bei Erstversorgung durch Laien oder wenn kein venöser Zugang möglich ist, kann Glukagon intramuskulär oder subkutan zur Steigerung der endogenen Glukoseproduktion appliziert werden. Eine intravenöse Laktatgabe als zusätzlicher Therapiebestandteil könnte folgende positive Auswirkungen haben: erstens könnte Laktat dazu beitragen, dass nach einer Hypoglykämie die zerebralen Energiespeicher in Form von Glykogen schneller regeneriert werden. Dieses Glykogen stünde dann bei erneuter Hypoglykämie zur kurzfristigen Überbrückung des Glukosemangels zur Verfügung (27). Zweitens könnten Patienten, die unter einer Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung

(hypoglycemia unawareness) leiden, von einer Laktatgabe während einer Hypoglykämie profitieren. Die Abschwächung der Inkretion gegenregulatorischer Hormone während einer Hypoglykämie durch Laktat, insbesondere die eines Anstiegs des Plasma-Kortisols (33), könnte die für die hypoglycemia unawareness typische Adaptation an niedrigere Blutzucker-Schwellenwerte für die neuroendokrinen Gegenregulation verhindern.

Um Aussagen über die Wirksamkeit einer Laktatgabe während einer Hypoglykämie bei Patienten mit Diabetes mellitus machen zu können, wäre es sinnvoll, den Einfluss von Laktat, insbesondere auf den zerebralen Hochenergie-Phosphatstoffwechsel und die hormonelle Gegenregulation, in diesem Patientenkollektiv zu untersuchen.

5 Zusammenfassung

Hintergrund und Fragestellung: Laktat, ein alternatives zerebrales Energiesubstrat zu Glukose, kann kognitive Funktionen während einer Hypoglykämie erhalten und die endokrine Gegenregulation abschwächen. Ziel dieser Studie war es herauszufinden, ob sich dieser bekannte neuroprotektive Effekt auch im Stoffwechsel der zerebralen Hochenergie-Phosphate ATP und Phosphokreatin (PCr) abbildet. Vergleichend wurde der Effekt von Laktat auf die Hochenergie-Phosphate des Skelettmuskels gemessen.

Material und Methoden: Bei 16 jungen, gesunden Männern wurde während eines hyperinsulinämisch-hypoglykämischen Clamps mit anschließender Rückführung in die Normoglykämie unter zwei Bedingungen der Stoffwechsel der Hochenergie-Phosphate ATP und PCr in Gehirn und Skelettmuskel in einem klinisch genutzten MRT gemessen. An einem Termin wurde Laktat infundiert (Laktatbedingung), an dem anderen Termin Ringerlösung (Kontrollbedingung). Es wurden ^{31}P -Magnetresonanz-Spektren im Okzipitallappen und der Wadenmuskulatur zur Bestimmung des ATP- und PCr-Gehalts gemessen. Die Angabe der Quotienten ATP/ P_i und PCr/ P_i ist eine übliche Methode, um Informationen aus Spektrenmessungen darzustellen. Es wurden Blutproben zur Bestimmung der gegenregulatorischen Hormone entnommen.

Ergebnisse: In der Normoglykämie führte Laktat zu steigenden zerebralen ATP/ P_i - und PCr/ P_i -Quotienten ($p < 0,05$). Wider Erwarten hatte Laktat keinen Einfluss auf die zerebralen ATP/ P_i - und PCr/ P_i -Quotienten während der Hypoglykämie ($p > 0,05$). Jedoch wurde die endokrine Gegenregulation durch Laktatgabe signifikant abgeschwächt ($p < 0,001$). Die Laktatgabe hatte keinen Effekt auf den muskulären Hochenergie-Phosphatstoffwechsel ($p > 0,05$).

Schlussfolgerung: Laktat hat einen additiven Effekt auf die zerebralen Hochenergie-Phosphate in der Normoglykämie. Während einer Hypoglykämie ist der Effekt des Laktats auf den zerebralen Stoffwechsel ausreichend hoch, um die neuroendokrine gegenregulatorische Antwort abzuschwächen. Trotz hierdurch bedingter geringerer endogener Glukosemobilisierung können die zerebralen Hochenergie-Phosphate durch Laktat auf dem gleichen Niveau wie in der Kontrollgruppe stabilisiert werden.

6 Literaturverzeichnis

1. **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: 271–279, 2002.
2. **American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia.** Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. *Diabetes Care* 28: 1245–1249, 2005.
3. **Amiel SA.** Hypoglycemia: from the laboratory to the clinic. *Diabetes Care* 32: 1364–1371, 2009.
4. **Amiel SA, Dixon T, Mann R, Jameson K.** Hypoglycaemia in Type 2 diabetes. *Diabet. Med* 25: 245–254, 2008.
5. **Amiel SA, Pottinger RC, Archibald HR, Chusney G, Cunnah DT, Prior PF, Gale EA.** Effect of antecedent glucose control on cerebral function during hypoglycemia. *Diabetes Care* 14: 109–118, 1991.
6. **Attwell D, Laughlin SB.** An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 21: 1133–1145, 2001.
7. **Bachert P, Schroder L.** Magnetic resonance imaging spectroscopy. Part 1: Basics. *Radiologe* 43: 1113–26; quiz 1127–8, 2003.
8. **Bachert-Baumann P, Ermark F, Zabel HJ, Sauter R, Semmler W, Lorenz WJ.** In vivo nuclear Overhauser effect in ^{31}P -(^1H) double-resonance experiments in a 1.5-T whole-body MR system. *Magn Reson Med* 15: 165–172, 1990.
9. **Barker PB, Golay X, Artemov D, Ouwkerk R, Smith MA, Shaka AJ.** Broadband proton decoupling for in vivo brain spectroscopy in humans. *Magn Reson Med* 45: 226–232, 2001.
10. **Benson JW Jr, Johnson DG, Palmer JP, Werner PL, Ensinnck JW.** Glucagon and catecholamine secretion during hypoglycemia in normal and diabetic man. *J Clin Endocrinol Metab* 44: 459–464, 1977.
11. **Berthet C, Lei H, Thevenet J, Gruetter R, Magistretti PJ, Hirt L.** Neuroprotective role of lactate after cerebral ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 29: 1780–1789, 2009.
12. **Bertocci LA, Lujan BF.** Incorporation and utilization of lactate and acetate by rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 86: 2077–2089, 1999.
13. **Blodgett DM, De Zutter JK, Levine KB, Karim P, Carruthers A.** Structural basis of GLUT1 inhibition by cytoplasmic ATP. *J Gen Physiol* 130: 157–168, 2007.
14. **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.
15. **Borg MA, Tamborlane WV, Shulman GI, Sherwin RS.** Local lactate perfusion of the ventromedial hypothalamus suppresses hypoglycemic counterregulation. *Diabetes* 52: 663–666, 2003.
16. **Borg WP, Sherwin RS, During MJ, Borg MA, Shulman GI.** Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release. *Diabetes* 44: 180–184, 1995.
17. **Boumezbeur F, Petersen KF, Cline GW, Mason GF, Behar KL, Shulman GI, Rothman DL.** The contribution of blood lactate to brain energy metabolism in

- humans measured by dynamic ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosci* 30: 13983–13991, 2010.
18. **Bouzier-Sore A, Voisin P, Bouchaud V, Bezancon E, Franconi J, Pellerin L.** Competition between glucose and lactate as oxidative energy substrates in both neurons and astrocytes: a comparative NMR study. *Eur. J. Neurosci* 24: 1687–1694, 2006.
 19. **Bouzier-Sore A, 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: 1298–1306, 2003.
 20. **Boyle PJ, Schwartz NS, Shah SD, Clutter WE, Cryer PE.** Plasma glucose concentrations at the onset of hypoglycemic symptoms in patients with poorly controlled diabetes and in nondiabetics. *N. Engl. J. Med* 318: 1487–1492, 1988.
 21. **Brooks GA, Mercier J.** Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the "crossover" concept. *J Appl Physiol* 76: 2253–2261, 1994.
 22. **Brown AM, Tekkök SB, Ransom BR.** Glycogen regulation and functional role in mouse white matter. *J. Physiol. (Lond.)* 549: 501–512, 2003.
 23. **Capaldo B, Napoli R, Di M, Sacca L.** Epinephrine directly antagonizes insulin-mediated activation of glucose uptake and inhibition of free fatty acid release in forearm tissues. *Metabolism* 41: 1146–1149, 1992.
 24. **Capaldo B, Napoli R, Guida R, Di Bonito P, Antonello S, Auletta M, Pardo F, Rendina V, Sacca L.** Forearm muscle insulin resistance during hypoglycemia: role of adrenergic mechanisms and hypoglycemia per se. *Am J Physiol* 268: E248-54, 1995.
 25. **Cersosimo E, Garlick P, Ferretti J.** Renal glucose production during insulin-induced hypoglycemia in humans. *Diabetes* 48: 261–266, 1999.
 26. **Chiasson JL, Shikama H, Chu DT, Exton JH.** Inhibitory effect of epinephrine on insulin-stimulated glucose uptake by rat skeletal muscle. *J Clin Invest* 68: 706–713, 1981.
 27. **Choi I, Seaquist ER, Gruetter R.** Effect of hypoglycemia on brain glycogen metabolism in vivo. *J. Neurosci. Res* 72: 25–32, 2003.
 28. **Cranston I, Lomas J, Maran A, Macdonald I, Amiel SA.** Restoration of hypoglycaemia awareness in patients with long-duration insulin-dependent diabetes. *Lancet* 344: 283–287, 1994.
 29. **Cryer PE** Hypoglycemia, Harrison T et al. (Hrsg.). Harrison's principles of internal medicine. 16. Aufl., S.: 2180–2185. New York: McGraw-Hill, 2005.
 30. **Cryer PE, Tse TF, Clutter WE, Shah SD.** Roles of glucagon and epinephrine in hypoglycemic and nonhypoglycemic glucose counterregulation in humans. *Am. J. Physiol* 247: E198-205, 1984.
 31. **Dager SR, Marro KI, Richards TL, Metzger GD.** Localized magnetic resonance spectroscopy measurement of brain lactate during intravenous lactate infusion in healthy volunteers. *Life Sci* 51: 973–985, 1992.
 32. **Dalsgaard MK, Quistorff B, Danielsen ER, Selmer C, Vogelsang T, Secher NH.** A reduced cerebral metabolic ratio in exercise reflects metabolism and not accumulation of lactate within the human brain. *J. Physiol. (Lond.)* 554: 571–578, 2004.
 33. **Davis SN, Shavers C, Davis B, Costa F.** Prevention of an increase in plasma cortisol during hypoglycemia preserves subsequent counterregulatory responses. *J Clin Invest* 100: 429–438, 1997.
 34. **De Feo P, Perriello G, Torlone E, Ventura MM, Fanelli C, Santeusano F, Brunetti P, Gerich JE, Bolli GB.** Contribution of cortisol to glucose counterregulation in humans. *Am J Physiol* 257: E35-42, 1989.
 35. **DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R.** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 237: E214-23, 1979.

36. **European Agency for Evaluation of Medicinal Products (EMA).** Note for guidance on clinical investigation of medicinal products in the treatment of Diabetes Mellitus [Online].
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003262.pdf [Zuletzt geprüft am 24 Feb. 2011].
37. **Fanelli CG, Epifano L, Rambotti AM, Pampanelli S, Di Vincenzo A, Modarelli F, Lepore M, Annibale B, Ciofetta M, Bottini P.** Meticulous prevention of hypoglycemia normalizes the glycemic thresholds and magnitude of most of neuroendocrine responses to, symptoms of, and cognitive function during hypoglycemia in intensively treated patients with short-term IDDM. *Diabetes* 42: 1683–1689, 1993.
38. **Ferrannini E, Natali A, Brandi LS, Bonadonna R, Kreutzemberg SV de, DelPrato S, Santoro D.** Metabolic and thermogenic effects of lactate infusion in humans. *Am. J. Physiol* 265: E504-12, 1993.
39. **Gerich JE, Langlois M, Noacco C, Karam JH, Forsham PH.** Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. *Science* 182: 171–173, 1973.
40. **Gjedde A, Crone C.** Induction processes in blood-brain transfer of ketone bodies during starvation. *Am. J. Physiol* 229: 1165–1169, 1975.
41. **Gladden LB.** Muscle as a consumer of lactate. *Med Sci Sports Exerc* 32: 764–771, 2000.
42. **Gladden LB.** Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J. Physiol. (Lond.)* 558: 5–30, 2004.
43. **Gladden LB, Crawford RE, Webster MJ.** Effect of lactate concentration and metabolic rate on net lactate uptake by canine skeletal muscle. *Am J Physiol* 266: R1095-101, 1994.
44. **Gonzalez-Alonso J, Dalsgaard MK, Osada T, Volianitis S, Dawson EA, Yoshiga CC, Secher NH.** Brain and central haemodynamics and oxygenation during maximal exercise in humans. *J Physiol* 557: 331–342, 2004.
45. **Gruetter R.** Glycogen: the forgotten cerebral energy store. *J. Neurosci. Res* 74: 179–183, 2003.
46. **Hamann JJ, Kelley KM, Gladden LB.** Effect of epinephrine on net lactate uptake by contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* 91: 2635–2641, 2001.
47. **Hassel BA, Hassel B, Bråthe A.** Cerebral metabolism of lactate in vivo: evidence for neuronal pyruvate carboxylation. // Cerebral metabolism of lactate in vivo: evidence for neuronal pyruvate carboxylation. *J Cereb Blood Flow Metab* 20(2) // 20: 327–336, 2000.
48. **Hasselbalch SG, Knudsen GM, Jakobsen J, Hageman LP, Holm S, Paulson OB.** Brain metabolism during short-term starvation in humans. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 14: 125–131, 1994.
49. **Havel PJ, Taborsky G.** The contribution of the autonomic nervous system to changes of glucagon and insulin secretion during hypoglycemic stress. *Endocr Rev* 10: 332–350, 1989.
50. **Hawkins RA, Mans AM, Davis DW.** Regional ketone body utilization by rat brain in starvation and diabetes. *Am. J. Physiol* 250: E169-78, 1986.
51. **Heller SR, Cryer PE.** Reduced neuroendocrine and symptomatic responses to subsequent hypoglycemia after 1 episode of hypoglycemia in nondiabetic humans. *Diabetes* 40: 223–226, 1991.
52. **Hellmann J, Vannucci RC, Nardis EE.** Blood-brain barrier permeability to lactic acid in the newborn dog: lactate as a cerebral metabolic fuel. *Pediatr Res* 16: 40–44, 1982.

53. **Hepburn DA, Deary IJ, Frier BM, Patrick AW, Quinn JD, Fisher BM.** Symptoms of acute insulin-induced hypoglycemia in humans with and without IDDM. Factor-analysis approach. *Diabetes Care* 14: 949–957, 1991.
54. **Herold G** Diabetes mellitus. Innere Medizin. *Eine vorlesungsorientierte DarstellungS.*: 635-647. Köln: Arzt + Information, 2007.
55. **Herold G** Referenzbereichsliste. Innere Medizin. *Eine vorlesungsorientierte DarstellungS.*: 839-847. Köln: Arzt + Information, 2007.
56. **Herold G** Hypoglykämie und Hypoglykämischer Schock. Innere Medizin. *Eine vorlesungsorientierte DarstellungS.*: 659-661. Köln: Arzt + Information, 2007.
57. **Hilsted J, Jensen KE, Thomsen C, Larsen S, Henriksen O.** Maintenance of high-energy brain phosphorous compounds during insulin-induced hypoglycemia in men. 31P nuclear magnetic resonance spectroscopy study. *Diabetes* 37: 760–762, 1988.
58. **Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl C, Berghold S, Lindenmeier G** Stoffwechsel der Kohlenhydrate. Biochemie des Menschen. *Das Lehrbuch für das MedizinstudiumS.*: 70-117. Stuttgart: Thieme, 2005.
59. **Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl C, Berghold S, Lindenmeier G** Die Muskulatur. Biochemie des Menschen. *Das Lehrbuch für das MedizinstudiumS.*: 569-576. Stuttgart: Thieme, 2005.
60. **Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl C, Berghold S, Lindenmeier G** Energieversorgung. Biochemie des Menschen. *Das Lehrbuch für das MedizinstudiumS.*: 350-377. Stuttgart: Thieme, 2005.
61. **Ide K, Schmalbruch IK, Quistorff B, Horn A, Secher NH.** Lactate, glucose and O₂ uptake in human brain during recovery from maximal exercise. *J. Physiol. (Lond.)* 522 Pt 1: 159–164, 2000.
62. **Iosifescu DV, Renshaw PE.** 31P-magnetic resonance spectroscopy and thyroid hormones in major depressive disorder: toward a bioenergetic mechanism in depression? *Harv Rev Psychiatry* 11: 51–63, 2003.
63. **Jansen AS, Hoffman JL, Loewy AD.** CNS sites involved in sympathetic and parasympathetic control of the pancreas: a viral tracing study. *Brain Res* 766: 29–38, 1997.
64. **Kang L, Routh VH, Kuzhikandathil EV, Gaspers LD, Levin BE.** Physiological and molecular characteristics of rat hypothalamic ventromedial nucleus glucosensing neurons. *Diabetes* 53: 549–559, 2004.
65. **Kelley KM, Hamann JJ, Navarre C, Gladden LB.** Lactate metabolism in resting and contracting canine skeletal muscle with elevated lactate concentration. *J Appl Physiol* 93: 865–872, 2002.
66. **Kemp GJ.** Non-invasive methods for studying brain energy metabolism: what they show and what it means. *Dev. Neurosci* 22: 418–428, 2000.
67. **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.
68. **Lager I.** The insulin-antagonistic effect of the counterregulatory hormones. *J Intern Med Suppl* 735: 41–47, 1991.
69. **Lager I, Smith U.** Beta-adrenoceptor blockade and recovery from hypoglycaemia in diabetic subjects: normalization after lactate and glycerol infusions. *Clin. Sci* 62: 131–136, 1982.
70. **Lee K, Dixon AK, Rowe IC, Ashford ML, Richardson PJ.** The high-affinity sulphonylurea receptor regulates KATP channels in nerve terminals of the rat motor cortex. *J. Neurochem* 66: 2562–2571, 1996.
71. **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.

72. **Löffler G** Energieumsatz der Muskelzelle. Basiswissen Biochemie. *Mit Pathobiochemie* S.: 686-693. Berlin: Springer, 2003.
73. **Lubow JM, Piñón IG, Avogaro A, Cobelli C, Treason DM, Mandeville KA, Toffolo G, Boyle PJ.** Brain oxygen utilization is unchanged by hypoglycemia in normal humans: lactate, alanine, and leucine uptake are not sufficient to offset energy deficit. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab* 290: E149-E153, 2006.
74. **Magistretti PJ.** Role of glutamate in neuron-glia metabolic coupling. *Am. J. Clin. Nutr* 90: 875S-880S, 2009.
75. **Magistretti PJ, Pellerin L, Rothman DL, Shulman RG.** Energy on demand. *Science* 283: 496-497, 1999.
76. **Maran A, Cranston I, Lomas J, Macdonald I, Amiel SA.** Protection by lactate of cerebral function during hypoglycaemia. *The Lancet* 343: 16-20, 1994.
77. **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.
78. **Mason GF, Petersen KF, Lebon V, Rothman DL, Shulman GI.** Increased brain monocarboxylic acid transport and utilization in type 1 diabetes. *Diabetes* 55: 929-934, 2006.
79. **McCrimmon R.** Glucose sensing during hypoglycemia: lessons from the lab. *Diabetes Care* 32: 1357-1363, 2009.
80. **McEwen B, Reagan L.** Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function. *Eur J Pharmacol* 490: 13-24, 2004.
81. **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: 6244-6250, 2005.
82. **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. (Lond.)* 544: 963-975, 2002.
83. **Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mokan 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: E67-74, 1991.
84. **Mokuda O, Sakamoto Y.** Insulin-induced hypoglycemia stimulates gluconeogenesis from 14C-lactate independently of glucagon and adrenaline releases in rats. *Exp. Clin. Endocrinol* 102: 351-354, 1994.
85. **Moller N, Butler PC, Antsiferov MA, Alberti KG.** Effects of growth hormone on insulin sensitivity and forearm metabolism in normal man. *Diabetologia* 32: 105-110, 1989.
86. **Oltmanns KM, Melchert UH, Scholand-Engler HG, Howitz MC, Schultes B, Schweiger U, Hohagen F, Born J, Peters A, Pellerin L.** Differential energetic response of brain vs. skeletal muscle upon glycemic variations in healthy humans. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol* 294: R12-6, 2008.
87. **Ordidge J, Connelly A, Lohmann J.** Image selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective NMR spectroscopy. *J Magn Reson* 66: 283-294, 1986.
88. **Orskov L, Bak JF, Abildgard, Schmitz O, Andreasen F, Richter EA, Skjaerbaek C, Moller N.** Inhibition of muscle glycogen synthase activity and non-oxidative glucose disposal during hypoglycaemia in normal man. *Diabetologia* 39: 226-234, 1996.

89. **Pardridge WM, Boado RJ, Farrell CR.** Brain-type glucose transporter (GLUT-1) is selectively localized to the blood-brain barrier. Studies with quantitative western blotting and in situ hybridization. *J. Biol. Chem* 265: 18035–18040, 1990.
90. **Pellerin L, Bouzier-Sore A, Aubert A, Serres S, Merle M, Costalat R, Magistretti PJ.** Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. *Glia* 55: 1251–1262, 2007.
91. **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: 10625–10629, 1994.
92. **Peters A.** The selfish brain: Competition for energy resources. *Am. J. Hum. Biol* 23: 29–34, 2011.
93. **Peters A, Pellerin L, Dallman MF, Oltmanns KM, Schweiger U, Born J, Fehm HL.** Causes of obesity: looking beyond the hypothalamus. *Prog. Neurobiol* 81: 61–88, 2007.
94. **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.
95. **Pierre K, Pellerin L.** Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *J. Neurochem* 94: 1–14, 2005.
96. **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: 315–326, 1982.
97. **Prichard JW, Alger JR, Behar KL, Petroff OA, Shulman RG.** Cerebral metabolic studies in vivo by ³¹P NMR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80: 2748–2751, 1983.
98. **Rango M, Castelli A, Scarlato G.** Energetics of 3.5 s neural activation in humans: a ³¹P MR spectroscopy study. *Magn Reson Med* 38: 878–883, 1997.
99. **Rasmussen P, Wyss MT, Lundby C.** Cerebral glucose and lactate consumption during cerebral activation by physical activity in humans. *FASEB J* 25: 2865–2873, 2011.
100. **Raz I, Katz A, Spencer MK.** Epinephrine inhibits insulin-mediated glycogenesis but enhances glycolysis in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 260: E430-5, 1991.
101. **Rosenthal JM, Amiel SA, Yáguez L, Bullmore E, Hopkins D, Evans M, Pernet A, Reid H, Giampietro V, Andrew CM, Suckling J, Simmons A, Williams SC.** The effect of acute hypoglycemia on brain function and activation: a functional magnetic resonance imaging study. *Diabetes* 50: 1618–1626, 2001.
102. **Sakurai T, Yang B, Takata T, Yokono K.** Synaptic adaptation to repeated hypoglycemia depends on the utilization of monocarboxylates in Guinea pig hippocampal slices. *Diabetes* 51: 430–438, 2002.
103. **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. *Metab. Clin. Exp* 57: 1733–1739, 2008.
104. **Schmoller A, Hass T, Strugovshchikova O, Melchert UH, Scholand-Engler HG, Peters A, Schweiger U, Hohagen F, Oltmanns KM.** Evidence for a relationship between body mass and energy metabolism in the human brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 30: 1403–1410, 2010.
105. **Scholand-Engler H, Melchert U, Caspary J, Oswald B, Schmoller A, Oltmanns K, Petersen D.** ³¹P-single-voxel-MR-spectroscopy under hypoglycemic conditions with 2 coils at 3 Tesla. *Scientific Poster*, 2008.

106. **Schurr A, Payne RS, Miller JJ, Rigor BM.** Brain lactate, not glucose, fuels the recovery of synaptic function from hypoxia upon reoxygenation: an in vitro study. *Brain Res* 744: 105–111, 1997.
107. **Schurr A, Payne RS, Miller JJ, Tseng MT.** Preischemic hyperglycemia-aggravated damage: evidence that lactate utilization is beneficial and glucose-induced corticosterone release is detrimental. *J Neurosci Res* 66: 782–789, 2001.
108. **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: 777–781, 1987.
109. **Service FJ, Dale AJ, Elveback LR, Jiang NS.** Insulinoma: clinical and diagnostic features of 60 consecutive cases. *Mayo Clin Proc* 51: 417–429, 1976.
110. **Shapiro ET, Cooper M, Chen CT, Given BD, Polonsky KS.** Change in hexose distribution volume and fractional utilization of [18F]-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose in brain during acute hypoglycemia in humans. *Diabetes* 39: 175–180, 1990.
111. **Shepherd PR, Kahn BB.** Glucose transporters and insulin action--implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *N Engl J Med* 341: 248–257, 1999.
112. **Simpson IA, Carruthers A, Vannucci SJ.** Supply and demand in cerebral energy metabolism: the role of nutrient transporters. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 27: 1766–1791, 2007.
113. **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.
114. **Smith U, Kuroda M, Simpson IA.** Counter-regulation of insulin-stimulated glucose transport by catecholamines in the isolated rat adipose cell. *J. Biol. Chem* 259: 8758–8763, 1984.
115. **Song Z, Levin BE, McArdle JJ, Bakhos N, Routh VH.** Convergence of pre- and postsynaptic influences on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes* 50: 2673–2681, 2001.
116. **Song Z, Routh VH.** Differential effects of glucose and lactate on glucosensing neurons in the ventromedial hypothalamic nucleus. *Diabetes* 54: 15–22, 2005.
117. **Stanley WC, Gertz EW, Wisneski JA, Neese RA, Morris DL, Brooks GA.** Lactate extraction during net lactate release in legs of humans during exercise. *J Appl Physiol* 60: 1116–1120, 1986.
118. **Tong Q, Ye C, McCrimmon RJ, Dhillon H, Choi B, Kramer MD, Yu J, Yang Z, Christiansen LM, Lee CE, Choi CS, Zigman JM, Shulman GI, Sherwin RS, Elmquist JK, Lowell BB.** Synaptic glutamate release by ventromedial hypothalamic neurons is part of the neurocircuitry that prevents hypoglycemia. *Cell Metab* 5: 383–393, 2007.
119. **Trepel M** Grundlagen, Begriffe, Definitionen. Neuroanatomie. *Struktur und Funktion*S.: 1-18. München: Urban & Fischer, 2004.
120. **Tyson RL, Gallagher C, Sutherland GR.** 13C-Labeled substrates and the cerebral metabolic compartmentalization of acetate and lactate. *Brain Res* 992: 43–52, 2003.
121. **van Hall G, Strømstad M, Rasmussen P, Jans O, Zaar M, Gam C, Quistorff B, Secher NH, Nielsen HB.** Blood lactate is an important energy source for the human brain. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 29: 1121–1129, 2009.
122. **Vanhamme, van den Boogaart A, Van Huffel S.** Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J. Magn. Reson* 129: 35–43, 1997.
123. **Véga C, Martiel J, Drouhault D, Burckhart M, Coles JA.** Uptake of locally applied deoxyglucose, glucose and lactate by axons and Schwann cells of rat vagus nerve. *J. Physiol. (Lond.)* 546: 551–564, 2003.

124. **Veneman T, Mitrakou A, Mokan M, Cryer P, Gerich J.** Effect of hyperketonemia and hyperlacticacidemia on symptoms, cognitive dysfunction, and counterregulatory hormone responses during hypoglycemia in normal humans. *Diabetes* 43: 1311–1317, 1994.
125. **Vion-Dury J, Meyerhoff DJ, Cozzone PJ, Weiner MW.** What might be the impact on neurology of the analysis of brain metabolism by in vivo magnetic resonance spectroscopy? *J Neurol* 241: 354–371, 1994.
126. **Weber-Fahr W.** MR-Spektroskopie. Physics and Psychiatrie, Workshop der Deutschen Gesellschaft für Medizinische Physik, Bildgebung für die Psychiatrie [Online]. http://www.phy4psy.de/MRS_WeberFahr.pdf [Zuletzt geprüft am 28 Nov. 2011].
127. **Wyss MT, Jolivet R, Buck A, Magistretti PJ, Weber B.** In vivo evidence for lactate as a neuronal energy source. *J. Neurosci* 31: 7477–7485, 2011.

7 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1:	^{31}P -MR-Spektrum Gehirn (105)	11
Abb. 1.2:	^{31}P -MR-Spektrum Muskulatur (105)	11
Abb. 2.1:	Versuchsablauf	17
Abb. 3.1:	Darstellung der Werte für den ATP/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende im Gehirn unter Laktat- und Plazebobedingung. ...	24
Abb. 3.2:	Darstellung der Werte für den PCr/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende im Gehirn unter Laktat- und Plazebobedingung. ...	24
Abb. 3.3:	Darstellung der Werte für den ATP/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende in der Muskulatur unter Laktat- und Plazebobedingung.....	26
Abb. 3.4:	Darstellung der Werte für den PCr/ P_i -Quotienten zu den Messzeitpunkten B1, B2, H1, H2, H3 und Ende in der Muskulatur unter Laktat- und Plazebobedingung.....	26
Abb. 3.5:	Verlauf der Plasma-Glukosekonzentration (mmol/l \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende.....	27
Abb. 3.6:	Insulinerumkonzentrationen ($\mu\text{IU}/\text{ml} \pm \text{SEM}$) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	28
Abb. 3.7:	C-Peptid-Konzentrationen (ng/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	29
Abb. 3.8:	Laktatplasmakonzentrationen (mmol/l \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	30
Abb. 3.9:	AdrenalinKonzentration (pg/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	31
Abb. 3.10:	NoradrenalinKonzentration (pg/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	32
Abb. 3.11:	Serum-Kortisolkonzentration ($\mu\text{g}/\text{dl} \pm \text{SEM}$) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	33
Abb. 3.12:	ACTH-Konzentration (pg/ml \pm SEM) zu den Messzeitpunkten Start bis Ende	34

8 Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1: Analysemethoden, Variationskoeffizienten, Entnahmesysteme und Lagerungssysteme der Laboranalysen; HPLC: High Pressure Liquid Chromatography; ELISA: Enzyme-Linked-Immunoassay; RIA: Radioimmunoassay; VK: Variationskoeffizient.....	20
--	----

9 Anhang

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck bewilligt (Aktenzeichen 02-068, 2002).

10 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Kerstin Oltmanns für die Überlassung des Themas sowie für die ausgezeichnete Betreuung und konstruktive Kritik während der Erstellung der Arbeit.

Meinen Betreuern, Frau Dr. med. Michaela Löbig und Herrn Dr. med. André Schmoller, aus der klinisch experimentellen Arbeitsgruppe Selfish-Brain unter der Leitung von Frau Prof. Dr. med. K. Oltmanns möchte ich recht herzlich für die Unterstützung während des praktischen Teils der Dissertation, für die Hilfsbereitschaft in allen Fragen und die statistische Auswertung der Daten sowie die Überlassung der Graphiken danken. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) danke ich für die Förderung der Selfish-Brain-Arbeitsgruppe.

Ebenso bin ich Herrn Dr. rer. nat. Uwe Melchert sowie Herrn Dipl.-Phys. Harald Scholand-Engler für die Durchführung und Auswertung der ^{31}P -MR-Spektren zu Dank verpflichtet, ohne deren Mitarbeit diese Dissertation nicht möglich gewesen wäre. Das Institut für Neuroradiologie hat freundlicherweise Geräte und Räume zur Verfügung gestellt.

Herrn Kai-Uwe Duysen gilt mein besonderer Dank für die tatkräftige und freundliche Unterstützung in der praktischen Studiendurchführung; Frau Kathleen Kurwahn und Frau Christiane Otten danke ich für die Durchführung der Laboranalysen und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Gerätschaften in der klinischen Chemie.

Julia Caspary möchte ich für die gute Zusammenarbeit bei dem gemeinsam durchgeführten praktischen Teil der Arbeit danken; ebenso bedanke ich mich bei den Probanden, ohne deren zuverlässiges Kommen die Erhebung der Daten nicht möglich gewesen wäre.

Ebenso möchte ich meinen Eltern für die Ermöglichung des Medizinstudiums sowie meinem Freund Moritz und meinen Freundinnen, insbesondere Franzi, für die Unterstützung während der Erstellung der Arbeit danken.

11 Lebenslauf



Persönliche Daten

Geburtsdatum: 13.11.1983
Geburtsort: München

Ärztliche Tätigkeit

Seit 02/2012 Assistenzärztin für Chirurgie, RoMed Klinikum
Rosenheim
06/2011-01/2012 Assistenzärztin für Gynäkologie und
Geburtshilfe, UEK Aurich

Promotion

01/2011 – 06/2012 Fertigstellung der Dissertation
08/2009 - 12/2010 Unterbrechung der Arbeit an der Dissertation
für die Dauer des Praktischen Jahres und der
Prüfungsvorbereitung für die zweite ärztliche
Prüfung
04/2007 - 08/2007 Durchführung des experimentellen Teils

Studium

12/2010 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2006 - 11/2010 Universität zu Lübeck
09/2006 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
10/2004 – 09/2006 Albert-Ludwigs-Universität Freiburg