

Aus der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. Fritz Hohagen

---

**Untersuchung der neuronalen Aktivierung und  
kognitiven Leistung während einer  
Arbeitsgedächtnisaufgabe bei der Gabe von Insulin  
Detemir im Vergleich zu Placebo bei Typ 2-Diabetikern**

*Eine fMRT-Studie*

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
- Aus der Sektion Medizin -

vorgelegt von Corinna Heinrich  
aus Stendal

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Matthias Nagel
2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Peter Hunold

Tag der mündlichen Prüfung: 30.09.2014  
zum Druck genehmigt. Lübeck, den 30.09.2014

Promotionskommission der Sektion Medizin

# Inhaltsverzeichnis

<b>A: Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>6</b>
<b>B: Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>8</b>
<b>C: Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>9</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>10</b>
1.1 Diabetes Mellitus Typ 2.....	10
1.1.1 Definition und Epidemiologie .....	10
1.1.2 Ätiologie und Pathogenese .....	11
1.1.3 Symptome und Spätfolgen .....	12
1.1.4 Diagnostik.....	13
1.1.5 Therapie .....	14
1.2 Insulin .....	15
1.2.1 Insulinwirkung im peripheren Gewebe .....	16
1.2.2 Insulinwirkung im zentralen Nervensystem .....	16
1.3 Demenz .....	17
1.3.1 Definition und Epidemiologie .....	17
1.3.2 Formen.....	18
1.3.3 Diagnostik und Therapie .....	19
1.4 Kognitive Defizite bei Diabetes Mellitus Typ-2.....	20
1.4.1 Einfluss von Insulin im ZNS auf kognitive Defizite .....	21
1.5 Das Arbeitsgedächtnis .....	23
1.5.1 Strukturen des Arbeitsgedächtnisses .....	23
1.6 Funktionelle Magnetresonanztomografie (fMRT).....	25
1.6.1 Physikalische Grundlagen .....	25
1.6.2 BOLD-Effekt .....	27

1.6.3	Bild-Bearbeitung .....	28
1.7	Arbeitshypothese und Fragestellung .....	29
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>30</b>
2.1	Probanden .....	30
2.2	Studie .....	32
2.2.1	Voruntersuchung .....	32
2.2.2	Glucose Clamp Versuch .....	32
2.2.3	Funktionelle Magnetresonanztomografie .....	34
2.2.4	n-back Paradigma .....	35
2.3	Statistische Auswertung .....	36
2.3.1	Auswertung der fMRT-Daten .....	36
2.3.2	Auswertung der Verhaltensdaten und der Laborwerte .....	37
2.4	Analytische Methoden .....	37
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>39</b>
3.1	Ergebnisse der neuropsychologischen Diagnostik .....	39
3.2	Ergebnisse der Blutwerte .....	39
3.2.1	Blutglucose-Konzentration .....	39
3.2.2	Blutinsulin-Konzentration .....	40
3.3	fMRT-Ergebnisse .....	42
3.3.1	Haupteffekt „Bedingung“ (2-back > 1-back) .....	42
3.3.2	Haupteffekt „Insulin“ (Detemir > Placebo) .....	43
3.3.3	Haupteffekt „Insulin“ (Detemir > Placebo) während 2-back .....	45
3.4	Ergebnisse der Verhaltensdaten .....	46
3.4.1	Reaktionszeit .....	46
3.4.2	Fehlerrate .....	47
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>49</b>
4.1	Mehraktivierung während der 2-back im Vergleich zur 1-back Bedingung .....	49
4.2	Mehraktivierung unter Detemir-Gabe im Vergleich zu Placebo .....	51

4.3	Mehraktivierung unter Detemir-Gabe im Vergleich zu Placebo während der 2-back Bedingung.....	52
4.4	Diskussion der Verhaltensdaten.....	53
4.5	Reliabilität der Ergebnisse .....	53
4.6	Eingliederung der Ergebnisse in Forschung .....	54
4.7	Ausblick.....	57
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>58</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>59</b>
<b>7</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>73</b>
7.1	Einwilligungserklärung.....	73
7.2	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer´s Disease (CERAD) .....	74
7.3	Wertetabellen .....	76
<b>8</b>	<b>Eidesstattliche Erklärung .....</b>	<b>78</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>79</b>
<b>10</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>80</b>

## A: Abkürzungsverzeichnis

A $\beta$	Amyloid $\beta$
ACE-Hemmer	Angiotensin Converting Enzyme
AD	Alzheimer Demenz
ANOVA	Analysis of Variance
Apo E 4	Apolipoprotein E 4
APP	Amyloid Precursor Protein
ASS	Acetylsalicylsäure
BA	Brodmann Areal
BBB	Blood Brain Barrier
BMI	Body Mass Index
BOLD	Blood Oxygenation Level Dependent
BZ	Blutzucker
CCT	Craniale Computertomografie
CERAD	Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease
CRP	C-Reaktives Protein
DemTect	Demenz-Detektion
DLPFC	Dorsolateraler Präfrontaler Cortex
DSM-IV	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4. Revision
EDTA	Ethylendiamin-Tetraacetat
EEG	Elektroenzephalografie
EPI	Echo Planar Imaging

FFA	Free Fatty Acid
fMRT	Funktionelle Magnetresonanztomografie
FWE	Family Wise Error
GH	Growth Hormone
Glut	Glukose-Transporter
GSK 3 $\beta$	Glycogen Synthase Kinase 3 $\beta$
HbA1c	Glykosyliertes Hämoglobin A1
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
ICD-10	International Classification of Disease, 10. Revision
IDE	Insulin Degrading Enzyme
I.E.	Internationale Einheit
IGF	Insulin-like Growth Factor
IR(S)	Insulinrezeptor(-Substrat)
KG	Körpergewicht
KV	Kassenärztliche Vereinigung
M.I.N.I.	Mini-International Neuropsychiatric Interview
MIP	Maximum Intensity Projections
MMSE	Mini Mental State Examination
MNI	Montreal Neurological Institute
NADPH	Nicotinamidadenin-Dinucleotidphosphat

NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NO	Stickstoffmonoxid
NPH-Insulin	Neutrales Protamin-Hagedorn Insulin
OAD	Orales Antidiabetikum
PAK	p21-Activated-Kinase
PET	Positronen-Emissions-Tomografie
PKB/PKC	Proteinkinase B/C
PRESS	Predicted Residual Sum of Squares
SD	Standardabweichung
SKID-II	Strukturiertes Klinisches Interview für DSM-IV, 2. Teil

SPM 8	Statistical Parametric Mapping Version 8
SPSS	Superior Performing Software System
T2DM	Diabetes Mellitus Typ 2
TE	Echozeit
TNF $\alpha$	Tumornekrose-Faktor $\alpha$
TR	Repetitionszeit
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem

## **B: Tabellenverzeichnis**

**Tabelle 1:** Medikation der Probanden und Anzahl derer, die jene während der Studie einnahmen.

**Tabelle 2:** Areale mit Cluster starker Aktivierungen im Vergleich „Bedingung“: 2-back > 1-back. BA = Brodmann Areal; angegeben sind MNI Koordinaten (Montreal Neurological Institut).

**Tabelle 3:** Areal mit Cluster starker Aktivierung im Vergleich „Insulin“: Detemir > Placebo. BA= Brodmann Areal; angegeben sind MNI Koordinaten (Montreal Neurological Institut).

**Tabelle 4:** Areal mit Cluster starker Aktivierung im Vergleich Detemir > Placebo während 2-back task. BA= Brodmann Areal; angegeben sind MNI Koordinaten (Montreal Neurological Institut).

**Tabelle 5:** Reaktionszeiten in ms  $\pm$  Standardabweichung (SD) der T2DM-Gruppe während Detemir- und Placebo-Bedingung. Signifikanz bei  $p < 0,01$ .

**Tabelle 6:** Soziodemografische Angaben  $\pm$  Standardabweichung der Versuchsgruppe.

**Tabelle 7:** Ergebnisse der neuropsychologischen Testbatterie  $\pm$  Standardabweichung der Versuchsgruppe.

**Tabelle 8:** Wertetabelle zu Abbildung 2 (Blutglucose-Konzentrationen während Glucose-Clamp-Untersuchung für T2DM). Die Werte sind Mittelwerte, errechnet aus den gemessenen Blutzucker-Konzentrationen aller Probanden.

**Tabelle 9:** Wertetabelle zu Abbildung 8 (Fehlerraten der T2DM-Gruppe während der Glucose-Clamp-Untersuchung).



## C: Abbildungsverzeichnis

**Abbildung 1:** Grafische Darstellung der n-back Übungen. Die Probanden mussten reagieren, wenn 2 gleiche Buchstaben direkt (1-back) oder mit einem Signal Abstand (2-back) erschienen.

**Abbildung 2:** Blutglucose-Konzentration der Typ 2-Diabetiker in den Bedingungen "Detemir" und "Placebo" während der Glucose-Clamp-Untersuchung. Zeitpunkt „0“ markiert den Start der fMRT-Aufnahme, die nach 30 Minuten endete.

**Abbildung 3:** Insulin-Konzentrationen der Typ 2-Diabetiker unter Detemir-Infusion während der Glucose-Clamp-Untersuchung. Zeitpunkt „0“ markiert den Start der fMRT-Aufnahme, die nach 30 Minuten endete.

**Abbildung 4:** Insulin-Konzentrationen der Typ 2-Diabetiker unter Placebo während der Glucose-Clamp-Untersuchung. Zeitpunkt „0“ markiert den Start der fMRT-Aufnahme, die nach 30 Minuten endete.

**Abbildung 5:** Aktivierung parietaler Regionen beidseits (2-back > 1-back). Haupteffekt „Bedingung“. Das blaue Kreuz markiert das lokale Maximum.

**Abbildung 6:** Mehraktivierung im Bereich des Precuneus links (Detemir > Placebo). Haupteffekt „Insulin“. Das blaue Kreuz markiert das lokale Maximum.

**Abbildung 7:** Mehraktivierung unter Detemir im Vergleich zu Placebo im Bereich des präzentralen Gyrus links während der 2-back-Bedingung. Das blaue Kreuz markiert das lokale Maximum -52/0/12.

**Abbildung 8:** Fehlerraten der T2DM-Gruppe während der Glucose-Clamp-Untersuchung aufgliedert in die Bedingungen Detemir und Placebo sowie 1-back und 2-back Aufgabe.

# 1 Einleitung

Die Deutsche Diabetes-Stiftung publizierte in ihrem Gesundheitsbericht von 2011, dass die Zahl der an Diabetes Mellitus Erkrankten kontinuierlich ansteigt. Dies liegt vor allem an der Zunahme des Typ 2-Diabetes Mellitus (T2DM). Die Neuerkrankungsrate für T2DM liegt in der Bevölkerungsgruppe der 55-74 Jährigen bei 270.000/Jahr (diabetesDE, 2011).

In verschiedenen Studien konnte nachgewiesen werden, dass der Typ 2-Diabetes ein erhöhtes Risiko für kognitive Einschränkungen und Demenz darstellt (Strachan et al., 2008). Es gibt Hinweise dafür, dass durch die Insulinresistenz an der Blut-Hirn-Schranke der Transport von Insulin zeitweise unzureichend ist. In der Folge, so wird vermutet, werden bestimmte Hirnregionen nicht ausreichend mit Glucose versorgt. Dieser Mechanismus wurde von Gold et al., 2007, als relative funktionelle Hypoglykämie beschrieben. Aufgrund des engen Zusammenhangs zwischen der Alzheimer-Demenz und dem Typ 2-Diabetes, wird die Alzheimer-Demenz sogar als Diabetes mellitus Typ 3 beschrieben (Steen et al., 2005).

Diese Arbeit ist Teil einer größeren Studie, bei der die Wirkung von Detemir, Actrapid und Placebo bei Diabetikern und Normalprobanden untersucht wurde. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Teilaspekt der Wirkung von Detemir auf die kognitive Leistungsfähigkeit von Typ 2-Diabetikern.

## 1.1 Diabetes Mellitus Typ 2

### 1.1.1 Definition und Epidemiologie

Der Typ 2-Diabetes ist eine chronisch-progrediente Erkrankung, die auf einem vererbten oder erworbenen Insulinmangel oder auf einer Insulinsekretionsstörung beruht (Deutsche Diabetes-Gesellschaft, 10/2012).

Die Prävalenz des manifesten Diabetes ist altersabhängig. So erkranken in Deutschland 4-10% der 40 bis 59-Jährigen, wohingegen bei den über 60-Jährigen 18-28% unter der

Krankheit leiden (diabetesDE, 2011). Die Diabetes-Häufigkeit, bezogen auf die gesamte erwachsene Bevölkerung (Alter: 20-79 Jahre), beträgt in Europa 8,6% (Deutschland 12%) und in Nordamerika bereits 12,3%. Weltweit sind derzeit 366 Millionen Menschen von einer diabetischen Stoffwechselerkrankung betroffen. Die Zahl soll bis 2030 auf 552 Millionen Diabetiker steigen (International Diabetes Federation, 2012).

### **1.1.2 Ätiologie und Pathogenese**

Der Typ 2-Diabetes bildet mit 90% die größte Gruppe der Diabetes-Erkrankungen. Pathophysiologisch stehen zwei Defekte im Vordergrund: 1. eine Störung der frühen Insulinsekretion direkt nach der Nahrungsaufnahme, die zu einer postprandialen Hyperglykämie führt (Cederholm und Wibell, 1985) und 2. die herabgesetzte Insulinwirkung, welche durch Downregulation der Rezeptoren sowie Prä- und Post-Rezeptordefekten verursacht wird (Banerji und Lebovitz, 1989).

Diverse Studien belegen eine starke genetische Komponente in der Entstehung des T2DM. So ist die Inzidenz für Verwandte 1. Grades, ebenfalls an Typ 2-Diabetes zu erkranken, signifikant erhöht (Camps et al., 1999). Auch Genmutationen von Proteinen der Insulinrezeptorsignalkaskade oder Polymorphismen im Insulinrezeptor-Substrat 1-Gen (IRS-1) konnten bereits nachgewiesen werden (Almind et al., 1993).

Der T2DM ist eng assoziiert mit dem metabolischen Syndrom, einer Symptom-Kombination bestehend aus abdomineller Adipositas, Dyslipoproteinämie, essenzieller Hypertonie und Insulinresistenz. Auf anfängliche Überernährung reagiert der Körper mit hohen Insulinspiegeln, die wiederum eine Downregulation der Insulinrezeptoren und somit eine verminderte Insulinwirkung zur Folge haben. Diese Insulinresistenz erfordert erhöhte Insulinspiegel zur zellulären Glucoseverwertung, sodass eine Hyperinsulinämie entsteht, die wiederum das Hungergefühl (Überernährung → Circulus vitiosus) steigert. Trotz der Hyperinsulinämie kann Glucose aufgrund der Insulinresistenz nicht ausreichend verwertet werden – Hyperinsulinämie und Hyperglykämie bestehen parallel. Im weiteren Verlauf kommt es in der Folge zur Entwicklung einer vorzeitigen Arteriosklerose bzw. weiterer Folgeerkrankungen (Tsuchihashi et al., 1999).

### 1.1.3 Symptome und Spätfolgen

Der T2DM äußert sich meist unspezifisch mit Müdigkeit, Leistungsminderung und aufgrund passagerer Hypoglykämien mit Heißhunger, Schwitzen und Kopfschmerzen. Wochen vor der Diagnosestellung können starker Gewichtsverlust, Hauterscheinungen (z.B. trockene Haut mit Pruritus) sowie Potenzstörungen bzw. Amenorrhoe in Erscheinung treten. Klassische Diabetes-Symptome wie Polyurie, Polydipsie und Nykturie sind bei dieser Form eher selten (Deutsche Diabetes-Gesellschaft, 10/2012).

Als Komplikation kann einerseits eine Hypoglykämie (Blutzucker < 50 mg/dl) auftreten, ausgelöst durch Überdosierung der Antidiabetika, Auslassen von Mahlzeiten, Sport, Durchfall oder Alkohol. Andererseits besteht durch unzureichende Insulinzufuhr oder vermehrten Insulinbedarf (z.B. Operation, Infekt) die Gefahr einer hyperglykämischen Entgleisung, die sich in Form eines hyperosmolaren Komas (Blutzucker > 600 mg/dl) äußert. Sie beginnt schleichend und wird deshalb oft verkannt.

Im fortgeschrittenen Stadium kann die diabetische Stoffwechsellage zu einer Makro- und Mikroangiopathie führen. Unter diabetischer Makroangiopathie werden Veränderungen an den großen und mittleren Blutgefäßen zusammengefasst. Dazu gehören zum einen Schäden an der Intima (Arteriosklerose) und zum anderen Schäden an der Media (Mönckeberg-Mediasklerose), die vor allem muskuläre Arterien befallen. Durch Verkalkungen an der Intima verlieren die Gefäße an Elastizität und werden im Laufe der Jahre immer enger. Es steigt das Risiko für akute Durchblutungsstörungen, welche zu Schlaganfall, Herzinfarkt, kognitiven Einschränkungen oder Verschlüssen in den peripheren Arterien führen können. Aufgrund begleitender Neuropathie kann der Schmerz als Warnsymptom (stumme Angina Pectoris, Claudicatio intermittens) nicht wahrgenommen werden. Das Risiko für Diabetiker an Arteriosklerose zu erkranken, ist höher als in der Normalbevölkerung. Durch die erhöhten Blutzuckerwerte werden bestimmte Fette vermehrt glykosyliert, sodass sie sich stärker an den Gefäßwänden ablagern. Das Risiko einen Herzinfarkt oder Schlaganfall zu erleiden, ist 2- bis 4-mal höher als in der nicht-diabetischen Bevölkerung. 67% der Diabetiker erkranken an Arterieller Hypertonie (Centers for Disease Control and Prevention, 2011).

Die Mikroangiopathie basiert auf nichtenzymatischer Glykosylierung von Proteinen der Basalmembranen und der Intima kleiner Blutgefäße wie Arteriolen, Venolen und

Kapillaren (Donahue und Orchard, 1992). Dabei korreliert die Dicke der Basalmembranen und Intima mit der Dauer der Diabeteserkrankung und führt zu typischen mikroangiopathischen Störungen: diabetische Nephropathie (25% nach 10 Jahren Erkrankungsdauer (American Diabetes Association, 2004)), diabetische Retinopathie (28% nach 15 Jahren Erkrankungsdauer (Centers for Disease Control and Prevention, 2011)) und diabetische Neuropathie sowie autonome diabetische Neuropathie (60-70% der T2DM-Patienten (Centers for Disease Control and Prevention, 2011)).

Des Weiteren konnte im Vergleich zur Normalbevölkerung bei T2DM-Patienten ein gleichzeitiges Auftreten von Demenz gehäuft festgestellt werden. Dies betrifft nicht nur die vaskuläre Demenz, die in der Genese ähnliche Risikofaktoren wie der Typ 2 Diabetes Mellitus aufweist, sondern auch den Alzheimer-Typ (Steen E, 2005; Strachan MW, 2008).

#### **1.1.4 Diagnostik**

Nach der American-Diabetes-Association, der WHO und der Internationalen Diabetes Föderation gelten folgende Diagnose-Empfehlungen: Bei einer venösen Gelegenheits-Plasmaglucose von  $\geq 200$  mg/dl, dem Vorliegen klassischen Symptomen (wie Polyurie, Polydipsie, unerklärbarer Gewichtsverlust) sowie Glukosurie, ist der Diabetes Mellitus diagnostiziert. Falls die Plasmaglucose einen Wert zwischen 100mg/dl und 200mg/dl aufweist, muss eine zweimalige Kontrolle der Nüchternglucose (nüchtern ist definiert als Fasten  $\geq 8$  Stunden) erfolgen. Sind bei beiden Kontrollen die Werte  $\geq 126$ mg/dl, ist ein Diabetes Mellitus erwiesen; siedeln sich die Werte zwischen 100 und 125 mg/dl an, ist die Indikation zum oralen Glucose-Toleranztest gegeben.

Zur Diagnose und vor allem zur Verlaufskontrolle des Diabetes Mellitus, eignet sich der HbA1c-Wert (glykosylierte Form des Hämoglobin A1). Je mehr Glucose im Blut ist, desto mehr Blutfarbstoff wird verzuckert. Aufgrund der langen Halbwertszeit des HbA1c von 60 Tagen (Erythrozyten-Lebensdauer 120Tage) lässt sich die glykämische Einstellung der vorausgegangenen zwei Monate gut beurteilen. Kurzfristige Blutzuckerspitzen bilden sich im HbA1c kaum ab. Seit März 2010 wird der Wert weltweit einheitlich in mmol/mol angegeben. Da es keinen Schwellenwert des HbA1c-Wertes gibt, unter dem kein Risiko für Entstehung von Spätkomplikationen besteht, sind niedrige Werte präventiv als sinnvoll

anzusehen (Deutsche Diabetes-Gesellschaft, 2011). Zur Diagnose darf der Wert erst seit 2011 herangezogen werden. Es gelten hierfür HbA1c-Werte ab 6,5% ( $\geq 48$  mmol/mol).

### **1.1.5 Therapie**

Ziel der Therapie des Diabetes Mellitus ist es, eine normoglykämische Blutzuckereinstellung zu erreichen. Durch eine optimale Langzeitblutzuckereinstellung (Nüchtern-glucose 80-120 mg/dl; HbA1c  $\leq 6,5\%$ ) kann die Inzidenz und Schwere diabetischer Spätfolgen positiv beeinflusst werden (Deutsche Diabetes-Gesellschaft, 2009). Des Weiteren haben die Behandlung der Risikofaktoren wie Hypertonie, Adipositas und Hyperlipidämie sowie die Vermeidung von Hyper- und Hypoglykämien eine hohe Priorität. Um die eben genannten Endpunkte zu erreichen, bedarf es komplexer Therapiemaßnahmen und einer umfassenden Patienten-Schulung.

Für die Behandlung des Typ 2-Diabetes stehen multiple Therapieansätze zur Verfügung. Im Initialstadium kann die Erkrankung positiv durch körperliche Aktivität, Diät und Gewichtsabnahme beeinflusst werden, wie die UKPSD-Studie darlegt (HbA1c sinkt um 2%). Sind die Allgemeinmaßnahmen erschöpft, ist ein orales Antidiabetikum (OAD) Mittel der Wahl. Reicht auch jenes nicht mehr aus, um normoglykämische Blutzuckerwerte zu erzielen, kann eine Kombination verschiedener OADs gegeben werden. Nach 5 bis 6 Jahren kommt es bei 50% der Patienten zum Sekundärversagen dieser Therapie (wegen Erschöpfung der Beta-Zellen), sodass eine Umstellung auf Basalinsulin bzw. Basalinsulin und Bolusinsulin plus orales Antidiabetikum empfohlen wird (Turner et al., 1998). Die erloschene oder verminderte Insulinsekretion wird durch künstliches oder fremdes Insulin ersetzt. Dabei wird die Wirkung der Therapie durch die aktuell vorhandene Insulinmenge im Blut und der Insulinempfindlichkeit des Gewebes determiniert. Bei der Insulintherapie wird versucht, die physiologische Ausschüttung nachzuahmen. Das heißt, dass morgens 8:00 Uhr der Serumspiegel höher liegt als nachts 0:00 Uhr (Merl et al., 2004).

Als Strategie haben sich zwei Methoden bewährt: die konventionelle Insulintherapie (fixe Schemata) und die intensivierete Insulintherapie (Basis-Bolus-Prinzip oder Insulinpumpentherapie). Bei der Wahl der Strategie sollte die klinische Situation des

Patienten, die Schwere seiner Stoffwechsellage wie auch seine Lernfähigkeit und -bereitschaft mit berücksichtigt werden (Deutsche Diabetes-Gesellschaft, 09/2011).

Es stehen sowohl kurz wirkende als auch Lang- bzw. Verzögerungs-Insuline zur Verfügung. Bei den Langzeitinsulinen wird durch Kombination von Insulin mit Protamin (z.B. NPH-Insulin), Zink (z.B. Ultratard) oder rekombinanten Proteinen (z.B. Detemir, Glargin) eine Verzögerung und längere Wirkungsdauer erreicht. Eine mehrfach tägliche Applikation ist zu bevorzugen, wobei sich die Häufigkeit und Dosierung nach der langfristigen glykämischen Stoffwechsellage orientiert. Insulin Detemir weist die Besonderheit auf, dass das C-terminale Threonin entfernt und an Lysin kondensiert wurde. Dadurch verstärkt sich die Assoziation der Detemir-Moleküle mit den Fettsäuren des Subcutangewebes an der Injektionsstelle. Weiterhin verfügt jenes Insulin über eine Fettsäure-Seitenkette, wodurch die Albuminbindung im Blut und reversibel am Zielgewebe verstärkt wird. Diese Aspekte führen zu einer langsameren Abgabe ins Zielgewebe und folglich zu einer reproduzierbaren Resorption und vorhersagbarem Wirkprofil (Panten und Rustenbeck, 2005).

## **1.2 Insulin**

Die endogene Synthese von Insulin, ein Peptidhormon, erfolgt in den  $\beta$ -Zellen der Langerhans-Zellen (Pankreas) durch Abspaltung von C-Peptid aus den Vorstufen Präproinsulin und Proinsulin. Es handelt sich um ein kristallines Insulin-Hexamer mit zwei Zink-Ionen. Durch die Kristallisation ist es stabil und länger speicherfähig. Da das C-Peptid mit Insulin zusammen freigesetzt wird, erlaubt es einen Rückschluss auf die körpereigene  $\beta$ -Zell-Funktion (Panten und Rustenbeck, 2005).

Neben einer zentralnervös gesteuerten zirkadianen Insulinsekretion stimuliert Glucose über den mitochondrialen Stoffwechsel die Insulinfreisetzung. Verstärkt wird dieser Prozess durch das Hormon Glucagon, welches durch Hypoglykämie, Aminosäuren sowie Sympathikus und Parasympathikus aktiviert wird. Somatostatin hingegen (stimuliert durch Glucose, Glucagon, Aminosäuren und den Parasympathikus) hemmt die Insulinfreisetzung. Ebenso wirkt Leptin hemmend, ein Hormon, welches vom Fettgewebe produziert wird (Panten und Rustenbeck, 2005).

### **1.2.1 Insulinwirkung im peripheren Gewebe**

Durch Bindung von Insulin an seinen Rezeptor (Tyrosinkinase-Rezeptor) werden, über eine Kaskade mehrerer Phosphorylierungen, die Proteinkinasen B und C (PKB, PKC) aktiviert, die den Glucosetransporter Typ 4 (Glut 4) in die Plasmamembran einbauen. Adapterproteine, wie die Insulinrezeptor-Substrate 1-6 (IRS), unterstützen diesen Prozess. Glut 4 verstärkt die Glucose-Aufnahme in die Zellen; PKB und PKC fördern die Umwandlung in Glycogen. Ferner hemmen sie die Gluconeogenese in Leber, Skelettmuskel und Niere. Daneben fördert Insulin die Aufnahme von Aminosäuren und Kalium in die Muskel- und Fettzellen sowie weitere anabole Stoffwechselprozesse, wie die Lipid- und Proteinsynthese (Kahn, 1985). Über Bindung von Insulin an den Insulin-like Growth Faktor-1-Rezeptor, der mit dem Insulinrezeptor verwandt ist, erlangt das Hormon einen wachstumsstimulierenden Effekt (Panten und Rustenbeck, 2005).

### **1.2.2 Insulinwirkung im zentralen Nervensystem**

Das Gehirn, welches früher als „insulinunabhängig“ galt, weist ebenfalls Insulinrezeptoren auf. Dies belegen diverse Studien und wurde bereits 1978 von Havrankova und Roth bei Untersuchungen an Ratten vermutet. Die Rezeptoren sind ubiquitär im Gehirn verbreitet. Die höchste Konzentration findet sich im limbischen System: Bulbus olfactorius, Hypothalamus, Amygdala und Hippocampus; außerdem im Kleinhirn und in den zirkumventrikulären Organen (Unger et al., 1991; Schubert et al., 2004; Craft, 2009).

Insulin gelangt nach heutigem Erkenntnisstand über zwei Wege ins Gehirn. Einerseits durch einen aktiven, rezeptorvermittelten Transport über die Blut-Hirn-Schranke (=BBB) (Pardridge et al., 1985) und andererseits über die zirkumventrikulären Organe, die wiederum mit dem Liquor in Kontakt stehen. Dabei entspricht der Liquor-Insulinspiegel dem peripheren Insulinspiegel (van Houten und Posner, 1983). Durch Bindung von Insulin an seinen Rezeptor werden, wie bei den peripheren Insulinrezeptoren, durch die Tyrosinkinase-Einheit Proteine phosphoryliert und somit aktiviert (Unger et al., 1991).

Die Funktion von zentralem Insulin ist noch nicht vollständig aufgeklärt und ist Gegenstand aktueller Forschungen. Als zunehmend gesichert gilt der regulierende Einfluss



auf die Nahrungsaufnahme, Schlaf und Energiehomöostase sowie auf die Sympathikus- und periphere Insulin-Aktivität (Unger et al., 1991; Plum et al., 2005). Weiterhin wird dem zentralen Insulin eine Schlüsselrolle in den Bereichen Lernen und Gedächtnis sowie Neuronen-Proliferation und Apoptose-Regulation zugeschrieben (Zhao und Alkon, 2001; Valenciano et al., 2006; Sabayan et al., 2008). Durch Lernprozesse wird die Expression und Phosphorylierung - also Aktivierung - der Insulinrezeptoren (IR) am Hippocampus gesteigert, dem Organ für Gedächtniskonsolidierung (Schubert et al., 2004). Dies untermauern Untersuchungen, die verbesserte Leistungen des Arbeitsgedächtnisses nach intranasaler Insulinapplikation zeigten (Sonntag et al., 2005; Benedict et al., 2007) bzw. positive Effekte auf das Sprachgedächtnis und die Aufmerksamkeit nach systemischer Insulininfusion herausarbeiteten (Fehm et al., 2000). In vitro gelang der Nachweis, dass durch Insulin die Aufnahme neuronaler Glucose in die hippocampalen Neurone gesteigert wird (Strachan, 2003). Durch externe Insulinzufuhr konnten Forschergruppen bei Alzheimer-Patienten kognitive Verbesserungen feststellen (Sabayan et al., 2008).

## **1.3 Demenz**

### **1.3.1 Definition und Epidemiologie**

Demenz wird von der ICD-10 als ein Syndrom definiert, das mit einer Störung vieler höherer kortikaler Funktionen einhergeht: Störung von Gedächtnis, Denken, Orientierung, Auffassungsgabe, Fähigkeit zu Lernen und Rechnen, Sprache und Urteilsvermögen. Das Bewusstsein ist bei den Betroffenen nicht getrübt. Die kognitiven Beeinträchtigungen werden gewöhnlich von Veränderungen der emotionalen Kontrolle, des Sozialverhaltens oder der Motivation begleitet, gelegentlich treten diese auch eher auf. Dieses Syndrom kommt bei Alzheimer-Krankheit, bei zerebrovaskulären Störungen und bei anderen Zustandsbildern vor, die primär oder sekundär das Gehirn betreffen (ICD-10-GM, Version 2013). Die Prävalenz dementieller Erkrankungen ist altersabhängig. Sie beträgt bei 65- bis 69-Jährigen 1,6% und steigt bei 80-Jährigen auf 15,7% an. Über 90-Jährige weisen zu 41% diese Symptomatik auf. Dabei leiden in Deutschland etwa 2/3 aller Demenz-Erkrankten an einer Demenz vom Alzheimer-Typ (Alzheimer Europe, 2009).

### 1.3.2 Formen

Zu den Hauptformen der Demenzen zählen die Alzheimer-Demenz (AD) sowie die vaskuläre Hirnatrophie. Weitere seltenere Typen sind die Lewy-Körperchen-Demenz, frontotemporale Demenz, Demenz bei Morbus Parkinson oder Chorea Huntington sowie Demenzen nach Infektionen oder toxischer bzw. metabolischer Genese (ICD-10-GM, Version 2013).

Patienten mit Morbus Alzheimer, zuerst 1906 von Dr. Alois Alzheimer beschrieben, weisen spezielle Hirnveränderungen auf, die mit einer Persönlichkeitsveränderung und einem progredienten Gedächtnisverlust einhergehen. Zu den Hirnveränderungen zählt man zum einen den fortschreitenden Neuronen-Untergang, der zu einer Gehirnsubstanz-Reduktion um bis zu 20% führen kann (Alzheimer-Gesellschaft, 1999). Der zelluläre Untergang im Cortex (v. a. temporal) und in den tiefen Hirnarealen führt zu Störungen der Informationsverarbeitung und der Gedächtnisleistung. Zum anderen ist AD gekennzeichnet durch senile  $\beta$ -Amyloid Plaques und neurofibrilläre Tangles.  $\beta$ -Amyloide sind unlösliche Proteinfragmente, die in den Neuronen kumulieren. Neurofibrilläre Tangles bestehen aus hyperphosphorylierten tau-Proteinen, die sich innerhalb der Axone ablagern und so zur Destabilisierung des Zytoskeletts und folglich zum Untergang der Zelle führen können (Alzheimer-Gesellschaft, 1999).

Die Ursache der Alzheimer-Erkrankung ist Gegenstand der Forschung. Bei einigen familiären Formen (early-onset Typ) konnte eine Punktmutation im APP-Gen des Chromosoms 21 nachgewiesen werden (St George-Hyslop et al., 1987; Goate, 2006). Amyloid-Precursor-Protein (APP) ist an der Bildung von Synapsen beteiligt (Priller et al., 2006). Patienten mit AD weisen Enzyme auf, die von APP neurotoxische Bruchstücke ( $\beta$ -Amyloide) abtrennen (Matsui et al., 2007). Bei dem late-onset-Typus wird eine Störung im Genotyp des Apolipoproteins E 4 (ApoE 4) auf Chromosom 19 angenommen (Corder et al., 1993). In anderen Studien werden Mutationen der Präsenilin-1- (Chromosom 14) und 2-Gene (Chromosom 1) diskutiert (Feng et al., 2004). Sowohl die molekulargenetischen Veränderungen von ApoE 4 als auch die der Präseniline sollen die extrazelluläre Amyloid- $\beta$ -Konzentration erhöhen und somit an der Plaque-Bildung beteiligt sein (Strittmatter et al., 1993; Scheuner et al., 1996). Mögliche Co-Faktoren der Alzheimer-Demenz sind Acetylcholin-Mangel (Nitsch et al., 1992) und immunologische Prozesse (Simard und

Rivest, 2006). Weitere Forschungen lassen vermuten, dass Alzheimer-Demenz das Risiko für Diabetes Mellitus Typ 2 steigert und gleichzeitig der T2DM das Auftreten von Alzheimer fördert (Gold et al., 2007; Strachan et al., 2008).

Die vaskuläre Demenz ist charakterisiert durch sekundär entstandene Hirnatrophien. Ursächlich sind Makro- und Mikroangiopathien, die zur Infarzierung des Gehirns führen. Die Infarkte sind meist klein, kumulieren aber in ihrer Wirkung. Risikofaktoren sind, wie beim Typ 2-Diabetes, die arterielle Hypertonie, Übergewicht, Rauchen und Hypercholesterinämie. Der T2DM führt über Glycierungsprozesse zu Entzündungen sowie mikro- und makrovaskulären Veränderungen, die eine atherosklerotische Demenz begünstigen (Craft, 2009).

### **1.3.3 Diagnostik und Therapie**

Die Leitlinie der Deutschen Gesellschaften für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde sowie der Gesellschaft für Neurologie (DGPPN und DGN, 2009) hat die Diagnostik degenerativer Demenzen wie folgt empfohlen: Primär ist die Eigen- und Fremdanamnese (insbesondere Familien- und Medikamentenanamnese) maßgebend. Diese kann bei Verdacht auf Demenz durch neurologische Untersuchungen, neuropsychiatrische Testverfahren (s. Kapitel 2.2.1) sowie Blutuntersuchungen (Blutbild, CRP, TSH, Leberwerte, Glucose) und Bildgebung (cCT, cMRT) ergänzt werden. Letztere dienen dem Ausschluss organischer Ursachen sowie der Differenzierung in die Demenzformen. Fakultativ kann ein EEG, eine Liquordiagnostik oder bei begründeten Verdacht die HIV-Testung angeführt werden.

Therapeutisch kommen multiple Ansätze zum Tragen. Einerseits sind dies Medikamente wie Cholinesterasehemmer oder NMDA-Antagonisten und ferner die korrekte Blutdruck- und Blutzuckereinstellung sowie die Sekundärprävention von ischämischen Ereignissen. Andererseits sind die nicht-medikamentösen Ansätze wie ressourcenorientiertes Hirnleistungstraining, Biografiearbeit, Kunst- und Musiktherapie sowie die Schulung von Pflegepersonal und Angehörigen wichtige Bestandteile der Behandlung, für die sich aus der Studienlage Hinweise für die Wirksamkeit ergeben (IQWiG, 2009).

## 1.4 Kognitive Defizite bei Diabetes Mellitus Typ-2

Diabetes-Patienten tragen im Vergleich zu Gesunden ein höheres Risiko für kognitive Defizite (Perlmutter et al., 1984; Ott et al., 1999; Cukierman et al., 2005). Bisher erklärte sich dies durch die vaskulären Komplikationen der Zuckerkrankheit, die z. B. durch rezidivierende Hypo- und Hyperglykämien verursacht werden. Durch neuere Studien verdichten sich die Hinweise, dass ebenso der Insulinmangel im Gehirn eine Schlüsselrolle einnimmt. Dies betrifft besonders den T2DM. Hier kommt es aufgrund langjähriger Hyperinsulinämie zur Insulinresistenz der Rezeptoren. Es folgt eine verminderte Insulin-Aufnahme über die BBB ins Gehirn (Craft, 2009). Funktionelle MRT-Daten zeigen, dass gut eingestellte Typ 2-Diabetiker eine Atrophie des Hippocampus und Schwächen in hippocampal-basierenden Leistungen aufweisen (Gold et al., 2007). An Ratten-Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass Insulinresistenz die histologische Struktur des Hippocampus verändert im Sinne von Synapsen-Abbau und verminderter Neuronen-Plastizität (Stranahan et al., 2008). Es resultieren Defizite in den Bereichen Arbeitsgedächtnis, psychomotorische Geschwindigkeit, episodisches und semantisches Gedächtnis (Ryan und Williams, 1993; Arvanitakis et al., 2004).

Weiterhin wird angenommen, dass die Insulin-Resistenz zu endothelialen Schäden und oxidativem Stress im Gehirn führt, sodass keine neuen Kapillaren rekrutiert werden können und weniger Glucose und Glucose-Transporter an die aktiven Hirnareale geliefert werden. Weniger Glucose-Anflutung bedeutet eine relative funktionelle Hypoglykämie. Gepaart mit Kortisol-Erhöhungen, welche oft beim Diabetes bestehen, können daher Gewebe-Schäden resultieren (de la Monte et al., 2006; Gold et al., 2007).

Durch den Insulinmangel im Gehirn wird die Lipolyse gesteigert. Konsekutiv können mehr freie Fettsäuren (FFA) freigesetzt werden. Hohe FFA-Levels fördern gegebenenfalls einerseits die Insulinresistenz der Gewebe (Tschritter et al., 2006) und andererseits die Akkumulation von Amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) zu Plaques und deren Transport ins Gehirn. Durch die FFA wird möglicherweise auch die Metalloprotease, Abbauenzym von A $\beta$ , gehemmt (Craft, 2009). Jene Amyloidplaques sind typische Gewebsveränderungen der Alzheimer-Demenz. Darüber hinaus sollen die reduzierten Insulin-Signale im Gehirn auch direkt die Freisetzung von A $\beta$  aus dem Amyloid-Vorläuferprotein APP sowie eine Steigerung der Tau-Phosphorylierung fördern können (Jolivald et al., 2008).

Da die Erkrankungen Diabetes Mellitus Typ 2 und Alzheimer-Demenz (AD) aufgrund der demografischen Entwicklung zunehmen, erlangt die Forschung daran besondere klinische Relevanz. Infolge dessen gründete sich DECODIA (Depression and Cognition in Diabetes), ein vom Bundesministerium für Bildung und Forschung gefördertes Konsortium nationaler Arbeitsgruppen, welches die Insulinwirkung auf kognitive Fertigkeiten untersucht (Nagel et al., 2010).

#### **1.4.1 Einfluss von Insulin im ZNS auf kognitive Defizite**

Basierend auf der Vermutung, dass zerebraler Insulinmangel mit kognitiven Störungen vergesellschaftet ist, könnte sich die Insulin-Behandlung des Typ 2-Diabetes auch zur Prävention bzw. Behandlung kognitiver Defizite anbieten. Positive Effekte von Insulin auf kognitive Funktionen von Alzheimer-Patienten konnten bereits in multiplen Untersuchungen nachgewiesen werden (Craft et al., 1998; Kern et al., 2001; Benedict et al., 2007; Burns et al., 2007). Dabei soll die Modulation der Gedächtnisfunktion dosisabhängig sein (Reger et al., 2008). Es wird vermutet, dass zentrales Insulin sowohl einen regulierenden Effekt auf  $\beta$ -Amyloid als auch auf das Tau-Protein hat. Beide Proteine sind bei der Entstehung der Alzheimer Demenz involviert. Protein Tau ist an Mikrotubuli gebunden und sorgt für dessen Stabilität (Buée et al., 2000). Durch Hyperphosphorylierung dissoziiert das Protein ab: es kommt zur Degeneration des Neurons und zur Kumulation der Tau-Proteine zu Neurofibrillen (Goedert et al., 1992). Durch Bindung von zentralem Insulin an seinen Rezeptor wird die Proteinkinase B (PKB) in den Neuronen aktiviert. PKB kann neuen Erkenntnissen zufolge über die Inaktivierung von Glycogen-Synthase-Kinase-3 (GSK-3) die Tau-Protein-Hyperphosphorylierung reduzieren (Hong und Lee, 1997; Schubert et al., 2004; Deutsch et al., 2006) und somit gegebenenfalls der Neurofibrillen-Bildung vorbeugen. Bezüglich des  $\beta$ -Amyloid besteht der Verdacht, dass das Insulin-degrading enzym (IDE) nicht nur für den Abbau von Insulin (negativer feedback) sondern auch für den Abbau von  $\beta$ -Amyloid verantwortlich ist. Amyloid- $\beta$  ist neurotoxisch und entsteht beim Abbau von APP. Ein stark erhöhter Insulinspiegel im ZNS könnte den Abbau von A $\beta$  hemmen, da beide um die Bindungsstelle am IDE konkurrieren. Ein niedriger Insulinspiegel im ZNS könnte dagegen die Bereitstellung von IDE reduzieren, sodass ebenfalls der Abbau von A $\beta$  gestört wäre (Sabayan et al., 2008). Daraus lässt sich

ableiten, dass sowohl zu viel als auch zu wenig Insulin im Gehirn für kognitive Defizite verantwortlich sein kann.

Weiter ist davon auszugehen, dass durch die Insulinresistenz beim T2DM Entzündungsmarker wie Tumornekrose-Faktor  $\alpha$  ansteigen (Haffner, 2006). TNF- $\alpha$  ist auch signifikant erhöht bei AD-Patienten und bewirkt möglicherweise die Akkumulation von  $\beta$ -Amyloid (Sabayan et al., 2008). Denkbar wäre, dass eine frühzeitige Insulintherapie die Menge des  $\beta$ -Amyloids eindämmen könnte. Ferner wirkt Insulin neuroprotektiv, indem es die Apoptose von Neuronen eindämmt (Sabayan et al., 2008). Acetylcholin, welches eine zentrale Rolle bei Gedächtnisleistungen spielt, ist bei AD reduziert. Es spricht einiges dafür, dass beim Diabetes Mellitus die Acetylcholin-Synthese vermindert ist, wobei diese Blockade wahrscheinlich durch Insulin-Zufuhr revidiert werden kann (Sabayan et al., 2008; Takeda et al., 2010). Ein weiterer Erklärungsansatz für den Effekt von Insulin auf kognitive Leistungen ist die Hemmung der A $\beta$ -induzierten NADPH-Aktivität durch PKB, wodurch das Nervensystem vor oxidativen Schäden geschützt wird. Ferner bewirkt PKB mutmaßlich die Stabilisierung von Drebrin, ein Protein in den Dendriten, welches in Lern- und Gedächtnisprozesse involviert ist. Drebrin ist bei AD reduziert (Harigaya et al., 1996), analog den p21-activated Kinasen (PAK), Enzyme mit zentraler Rolle in der Regulation von Synapsenbildung, -formierung und -stabilität. PAK soll wie PKB durch Insulintherapie regulierbar sein (Cole und Frautschy, 2007).

Allerdings gibt es auch Studien, die keine Evidenz dafür finden, dass die neuropathologischen Kennzeichen von AD in den Gehirnen von Diabetikern signifikant erhöht sind (Schubert et al., 2004; Arvanitakis et al., 2006; Alafuzoff et al., 2009). Es ist denkbar, dass durch Diabetes Mellitus und resultierendem „Stress“ die Hypothalamus-Hypophysen-Achse aktiviert wird, was wiederum durch Serotonin-Reduktion eine depressive Stimmung verursacht (Sabayan et al., 2008). Depressive Verstimmungen können die Symptomatik von Alzheimer Demenz vortäuschen (Kral, 1982).

## **1.5 Das Arbeitsgedächtnis**

Das Arbeitsgedächtnis dient dem Aufnehmen von Informationen, deren kurzfristiger Speicherung sowie Modulation und Prozessierung (Newman et al., 2002). Nach Baddeley und Gathercole (1974) besteht es aus einer „Zentralen Exekutive“, welche die Koordinationsfunktion inne hat und die Aufmerksamkeit lenkt. Daneben beschreiben sie visuelle, episodische und phonologische Elemente. Durch den Einsatz funktioneller Bildgebung, wie die funktionelle Magnetresonanztomografie (fMRT), konnten neurologische Korrelate im Precuneus, im inferioren Parietallappen beidseits, im dorsolateralen präfrontalen Cortex (DLPFC) und seltener im Hippocampus (Gyrus temporalis medialis) ausgemacht werden (Cohen et al., 1993; LaBar et al., 1999).

### **1.5.1 Strukturen des Arbeitsgedächtnisses**

Der Precuneus ist für das Abrufen von episodischen Inhalten verantwortlich (Cavanna und Trimble, 2006). Besonders hohe Aktivierungen finden sich beim Wiedererkennen älterer Items im Vergleich zu neuen Informationen (Habib und Lepage, 1999).

Dem Lobus parietalis inferior werden Funktionen in der räumlichen, visuellen und selektiven Aufmerksamkeit zugeschrieben (Braver et al., 2001; Emery et al., 2008).

Der DLPFC ist für die Verifizierung und Organisierung von Informationen vor der Abspeicherung verantwortlich. Weiterhin vergleicht jenes Gebiet eher unstrukturierte, neue Stimuli mit bereits gespeichertem Material. Dabei passt es das Abgespeicherte dem Neuen in Form von Reorganisierungs-Prozessen an (Owen et al., 2005).

Daneben spielt der Hippocampus eine eher untergeordnete Rolle bei der Durchführung von Arbeitsgedächtnisaufgaben, wie diverse Studien zeigen (Squire und Zola, 1996; Baddely et al., 2010).

Da die eben beschriebenen Hirnareale eine hohe Insulinrezeptor-Konzentration aufweisen (Hopkins und Williams, 1997) und unter der Annahme, dass zentrales Insulin das Lernen und Gedächtnis verbessert, müsste bei Beanspruchung des Arbeitsgedächtnisses, z.B. in Form von Wörterlisten, unter externer Insulin-Zufuhr eine bessere Funktionsfähigkeit

resultieren. Diese These bestätigen Forscher aus Magdeburg mit Hilfe eines Kurzzeitgedächtnistests. Sie konnten mittels funktioneller Magnetresonanztomografie (fMRT) bei Gedächtnisaufgaben (memory-task) stärkere Signale im Gyrus temporalis medialis unter Insulinzufuhr im Vergleich zu Kochsalzlösung-Infusion messen (Rotte et al., 2005). Einer anderen Forschungsgruppe gelang der Nachweis, dass Alzheimer-Patienten im Vergleich zu Gesunden eine verminderte Aktivität im medialen Temporallappen bei Gedächtnisübungen aufweisen (Dickerson und Sperling, 2008). Weiterhin konnte anhand von PET-Untersuchungen herausgefunden werden, dass bei Alzheimer-Patienten sowie Patienten mit milden kognitiven Defiziten ein reduzierter Glucose-Stoffwechsel und somit eine verminderte Hirnleistung in den Bereichen Hippocampus, temporoparietaler und -frontaler Hirnlappen vorliegen (Drzezga et al., 2008; Mosconi et al., 2008). Diese Ergebnisse stützen die Annahme, dass AD und Insulinmangel im Gehirn pathogenetisch zusammenhängen und Insulin den reduzierten Hirnstoffwechsel bei kognitiven Defiziten durch Hyperaktivität kompensieren könnte (Dickerson und Sperling, 2008).

Ein geeigneter Test zur Untersuchung der arbeitsgedächtnisassoziierten Areale stellt die n-back Übung dar (s. Kapitel 2.2.4). In dieser Studie wurde ein n-back Paradigma verwendet, das zwei Schwierigkeitsstufen beinhaltet. Den Probanden wurden randomisiert Buchstaben präsentiert. Während der 1-back Übung wurden sie angewiesen, ein Signal abzugeben, wenn sich zwei Buchstaben direkt wiederholen. In der 2-back Übung sollte ein Signal erfolgen, wenn der aktuelle Buchstabe dem Vorletzten entspricht. Die zweite Übung setzt voraus, dass die Buchstaben kurzzeitig abgespeichert und mit den Vorherigen verglichen werden. Dies erfordert eine ständige Aufmerksamkeit sowie eine kontinuierliche Abgleichung von Informationen und spricht daher die Schlüsselaufgaben des Arbeitsgedächtnisses an (Owen et al., 2005). Studien zeigen, dass mithilfe des n-back Paradigmas stabile Aktivierungen im parietalen und dorsolateralen-präfrontalen Kortex gemessen werden (Owen et al., 2005; Hautzel, 2008).



## **1.6 Funktionelle Magnetresonanztomografie (fMRT)**

Die funktionelle Magnetresonanztomografie ist ein bildgebendes Verfahren, welches dynamische Prozesse erfassen kann. Aufgrund der nicht-invasiven Darstellung und dem Fehlen einer Strahlenbelastung oder Kontrastmittel-Injektion, eignet sich das fMRT besonders gut für die Diagnostik und Forschung im Bereich der Neuroradiologie. Mit Hilfe dieser Methode kann z.B. eruiert werden, ob und in welchem Ausmaß eine Hirnregion in die Bearbeitung von bestimmten Informationen involviert ist. Durch das Bearbeiten von z.B. Gedächtnisaufgaben, werden die entsprechenden Hirnareale vermehrt durchblutet. Ein Effekt, der durch das fMRT sichtbar wird.

### **1.6.1 Physikalische Grundlagen**

Das Prinzip basiert auf im Körper enthaltenen Wasserstoffionen. Diese rotieren ständig um ihre eigene Achse (Spin) und erzeugen so ein Magnetfeld. Die Drehachsen der einzelnen Protonen sind zufällig im Raum verteilt, sodass sich die magnetischen Momente ausgleichen. Gelangen die Protonen in ein starkes Magnetfeld (wie das fMRT), rotieren sie um die Achse der Magnetfeldrichtung (Präzessionsbewegung), um das Magnetfeld möglichst zu neutralisieren. Die Frequenz der Präzessionsbewegung hängt linear von der Feldstärke des angelegten Magnetfeldes ab (Stöcker und Shah, 2007; Siedentopf C, 2013).

Die Protonen erzeugen durch Addition ihrer Spins entlang der Magnetfeldrichtung eine Längsmagnetisierung (z-Ebene). Im rechten Winkel zur Präzessions-Richtung wird durch das fMRT ein Hochfrequenzimpuls (HF-Impuls,  $90^\circ$ -Impuls) eingestrahlt. Erreicht der HF-Impuls die gleiche Frequenz wie die Präzessions-Frequenz der Protonen, werden jene in eine Rotation quer zur Magnetfeldstärke gezwungen. Es entsteht die Quermagnetisierung (xy-Ebene), die antiparallel zum Magnetfeld liegt und somit energetisch nachteilig ist. Je höher der HF-Impuls, desto größer ist der Kippwinkel (Flipwinkel) des Spin. Der Abbau der Längsmagnetisierung mit Aufbau der Quermagnetisierung (Phasierung) wird als Magnetresonanz bezeichnet. Nach Abschalten des Impulses klappen die Protonen zurück in die energetisch günstigere, parallele Richtung zum Magnetfeld (z-Ebene). Die Quermagnetisierung nimmt ab (Querrelaxation/Dephasierung), die Längsmagnetisierung

erreicht ihren Ausgangswert (Längsrelaxation). Bei der Querrelaxation, die den Verlust der Spinsynchronisation beschreibt, unterscheidet man die T<sub>2</sub>- von der T<sub>2</sub>\*-Relaxationszeit. Erstere ist abhängig von der Spin-Spin-Wechselwirkung sowie dem Gewebetyp. Die T<sub>2</sub>\*-Relaxationszeit wird von Magnetfeldinhomogenitäten bestimmt, die durch die Überlagerung der Spin-Magnetfelder mit dem fMRT-Magnetfeld entstehen. T<sub>2</sub>\* ist die Zeit, nach der die Quermagnetisierung auf 37% ihres Ausgangswertes zurückgegangen ist. Um die Magnetfeldinhomogenitäten auszuschalten, erzeugt man kurz nach dem 90°-Impuls einen 180°-Impuls. Dadurch wird die Quermagnetisierung wiederhergestellt (Rephasierung) und ein Spin-Echo erzeugt. Die Längsrelaxation bzw. T<sub>1</sub>-Relaxationszeit ist die Zeit, nach der 63% der Spins ihre ursprüngliche Längsmagnetisierung erreicht haben (Siedentopf C, 2013).

Die Zeit zwischen Hochfrequenzimpuls und MR-Signal wird als Echozeit (TE) definiert, die Zeit zwischen den Hochfrequenzimpulsen als Repetitionszeit (TR). Ist die TR beispielsweise kurz, können nicht alle Spins von Geweben mit langer T<sub>1</sub> relaxieren. Aber nur relaxierte Spins können durch den neuen HF-Impuls angeregt werden. Die entstehenden Bilder sind T<sub>1</sub>-gewichtet. Gewebe mit hoher Stoffdichte (z.B. Hirnparenchym) weisen eine kurze T<sub>1</sub> auf, daraus resultiert eine höhere Quermagnetisierung und sie erscheinen hell im MRT-Bild. In T<sub>2</sub>-gewichteten Aufnahmen wählt man eine lange TR, sodass alle Spins vollständig relaxieren können und das Signalecho unabhängig von der T<sub>1</sub>-Zeit ist. Wählt man zusätzlich eine lange Echozeit, ist das Signal stark von der Spin-Spin-Wechselwirkung und somit von der T<sub>2</sub>-Zeit abhängig. Gewebe mit hoher Protonendichte (z.B. Liquor) und somit großer Quermagnetisierung, erscheinen in T<sub>2</sub>-gewichteten Bildern hell.

Um aus den MR-Signalen eine räumliche Struktur berechnen zu können, wird eine Ortskodierung benötigt. Hierzu wird für jede Raumrichtung eine Gradientenspule (x-, y-, z-Gradient) zugeschaltet. Durch Überlagerung der Gradientenfelder mit dem Präzessionsfeld entsteht für jeden Volumenpunkt (Voxel) eine spezifische Feldstärke und somit spezifisches MR-Signal. Der Schichtselektionsgradient (z-Gradient), der zum 90°- und 180°-Impuls zugeschaltet wird, bestimmt die Schichttiefe. Jede Schicht erfüllt nur für einen HF-Impuls die Resonanzbedingung. Über den Phasencodier-Gradient (y-Gradient), der zwischen dem 90°- und 180°-Impuls wirkt, wird die Magnetfeldstärke und somit Präzessions-Geschwindigkeit der Protonen longitudinal kodiert. Dies hält auch an,

nachdem der Gradient abgeschaltet ist. Diesen Effekt nennt man Phasenverschiebung. Die dritte Ebene (x-Gradient; Frequenzkodierung) wird durch einen Anstieg der Präzessionsfrequenz von links nach rechts definiert. Dieser Gradient wird kurz nach dem 180°-Impuls zugeschaltet. Über ein aufwendiges Rechenverfahren kann der MR-Computer aus den gewonnenen Daten ein 3D-Bild berechnen (Weishaupt et al., 2006; Siedentopf C, 2013).

Für die fMRT, welche physiologische Parameter untersucht, bietet sich das Echo Planar Imaging (EPI) an. Beim EPI können MR-Bilder in weniger als 100 ms erstellt werden, indem es nur eine einzige Anregung nutzt und auf den 180°-Impuls verzichtet. Um dennoch die Magnetfeldinhomogenitäten zu reduzieren, erfolgt das Anlegen der Gradientenechosequenzen. Diese erzeugen künstliche Inhomogenitäten. Im zweiten Schritt wird eine Gradientenumkehr durchgeführt, die die künstlichen Magnetfeldinhomogenitäten rephasiert, aber nicht die ursprünglichen der T2\*-Relaxation. Das MR-Signal ist bei diesem Verfahren von T1 und T2\* abhängig.

### **1.6.2 BOLD-Effekt**

Mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomografie können neuronale Aktivitäten gemessen und dargestellt werden. Dieser Mechanismus beruht auf der Eigenschaft, dass oxygeniertes Hämoglobin andere magnetische Eigenschaften aufweist als die desoxygenierte Form. Beim Oxyhämoglobin wird, durch die Sauerstoff-Aufnahme, die magnetische Eigenschaft des Eisens verringert (diamagnetisch). Eisenatome im Desoxyhämoglobin besitzen ihre volle magnetische Funktion (paramagnetisch), was zu lokalen Magnetfeldinhomogenitäten führt. Hämoglobin fungiert als „intrinsisches“ Kontrastmittel. Wird ein Hirnareal stimuliert, z.B. durch eine Arbeitsgedächtnisaufgabe, erhöht sich der Sauerstoffbedarf in jenem Gebiet. Es folgt sowohl eine Steigerung des lokalen Blutflusses als auch des Glucose- und Sauerstoffverbrauchs. Das aktivierte Hirnareal erfährt eine Änderung der lokalen Oxygenierung. Dieser Effekt wird als BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) beschrieben (Ogawa et al., 1990).

Zunächst kommt es aufgrund des vermehrten Sauerstoffbedarfs zu einem Anstieg der Desoxyhämoglobin-Konzentration („initial dip“). Nach etwa 2-3 Sekunden erhöht sich der

lokale Blutfluss, das Maximum der Sauerstoffanflutung wird nach 4-6 Sekunden erreicht. Oxyhämoglobin verfügt aufgrund des diamagnetischen Eisens über einen geringeren Spin als Desoxyhämoglobin. Dadurch kommt es zu einer langsameren Dephasierung, was wiederum zum Signalanstieg in dem aktiven Hirnbereich in T2\*-gewichteten Bildern führt. Der BOLD-Effekt ist eine indirekte Methode, um eine lokale neuronale Aktivität zu erfassen (Logothetis et al., 2001). Aufgrund der Latenz von 2-3 Sekunden erscheint das BOLD-Signal zeitverzögert. Dies muss beim Versuchsaufbau, insbesondere bei der zeitlichen Abfolge von Stimuluspräsentation und Antwortdetektion, beachtet werden (Siedentopf C, 2013).

### **1.6.3 Bild-Bearbeitung**

Während der MRT-Untersuchung findet ein Wechsel zwischen Phasen mit einer Aktivierungs-Aufgabe und Ruhepause statt. Letztere dienen als Kontroll-Bilder. Durch Verrechnung dieser fMRT-Daten erhält man eine Hirnkartierung, in der die aktivierten Bereiche herausgearbeitet und dem spezifischen Kortex zugeordnet sind (Weishaupt et al., 2006). Die Differenzierung in Ruhe- und Aktivitätsphasen (Block-Design) dient weiterhin der Elimination von Artefakten (Siedentopf C, 2013).

Das Pre-Processing (Vorverarbeitung) der Bild-Daten beinhaltet mehrere Teilschritte. Damit Artefakte wie Kopfbewegungen und stimuluskorrelierte Bewegungen (z.B. Knopfdruck beim n-back) nicht Aktivierungen vortäuschen, werden die Bilder bewegungskorrigiert (Realignment), wobei das erste Bild der Messreihe als Referenzbild dient. Durch die Überlagerung von Aktivierungs- und Referenzbild erhält man ein Verhältnisbild. Dies kann stark heterogene Werte aufweisen, die man über die Berechnung von Standardabweichungen (SD) quantifiziert. Je kleiner die SD, desto deckungsgleicher ist das gewonnene Verhältnisbild. Bilder, die um über 2mm oder 0,5° verschoben sind, können nicht mit in die Analyse einfließen.

Um Vergleiche zwischen den Probanden oder Bedingungen zu ermöglichen, müssen die individuellen anatomischen Bilder auf einen standardisierten Raum (z.B. Koordinatensystem vom Montreal Neurological Institute (MNI)) angepasst werden. So liegt jede anatomische Struktur immer an der gleichen Koordinate (Normalizing).

Am Ende werden die Daten anhand eines Kernels (Filtermaske) geglättet (Smoothing), indem die Bildgrautöne benachbarter Voxel mittels Gauß-Verteilung verrechnet werden. Dies eliminiert große Signalsprünge zwischen benachbarten Voxel und verbessert die Abgrenzung zwischen Aktivierung und Störsignal (Signal-Rausch-Verhältnis).

## **1.7 Arbeitshypothese und Fragestellung**

Das Insulin-Analogon Detemir kann aufgrund seiner Lipophilie die Blut-Hirn-Schranke besonders gut überwinden (Hennige et al., 2006), da es an seinen Seitenketten Myristinsäure (Fettsäure) aufweist. Durch diese Seitenkette ist Detemir besonders lipophil und bindet an Albumin. Detemir wird somit langsam und gleichmäßig an das Zielgewebe abgegeben (Depoteffekt sowie vorhersagbares Zeit-Wirkprofil). Folgernd ergibt sich, dass sich Insulin Detemir stärker im Gehirn anreichert als andere Insuline und demnach auch stärkere Effekte am Zielort erreicht werden können. Eine Lübecker Studie unter Hallschmid (2010) untermauerte diese These. Die Forscher untersuchten hierbei die Wirkung von Insulin auf die Nahrungsaufnahme und konnten unter Detemir eine stärkere Reduktion feststellen als unter Humaninsulin (Hallschmid et al., 2010). Die Wirkung von Detemir auf die Funktion des Arbeitsgedächtnisses wurde bisher in keiner Studie untersucht.

Für die vorliegende Studie möchten wir folgende Hypothesen überprüfen:

1. Während der Ausführung der 2-back Aufgabe kommt es zu einer stärkeren Aktivierung als bei der 1-back Aufgabe
2. Durch die Gabe von Insulin Detemir kommt es zu einer gesteigerten neuronalen Aktivierung im Gehirn in arbeitsgedächtnisspezifischen Arealen
3. Durch das Insulin Detemir wird die kognitive Leistung gesteigert.

Um dies reliabel messbar zu machen, bedienen wir uns dem bewährten n-back Paradigma (s. Kapitel 2.2.4), welches die Hirnareale der Arbeitsgedächtnisses stimuliert. Wir prüften mittels fMRT, ob unter Detemir vs. Placebo der BOLD-Effekt in den n-back angeregten Bereichen verstärkt wird.

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Probanden

Für die Studie wurden 16 nicht-insulinpflichtige Typ 2-Diabetiker untersucht. Als Einschlusskriterien galten: männliches Geschlecht, Alter zwischen 40 und 60 Lebensjahren und ein Body Mass Index bis 30 kg/m<sup>2</sup>. Ausschlusskriterien waren weitere internistische, neurologische oder psychiatrische Erkrankungen, da darunter zum einen der Metabolismus von Insulin und Glucose und zum anderen die kognitiven Prozesse verändert sein könnten. Aus diesem Grund stellen auch  $\beta$ -Blocker ein Ausschlusskriterium dar, weil unter deren Einnahme ein negativer Effekt auf die Kognition nachgewiesen werden konnte (Gliebus et al., 2007). Zusätzlich mussten solche Probanden ausgeschlossen werden, die ungeeignet für MRT-Untersuchungen waren (z.B. Probanden mit Metallteilen im Körper, großen Tätowierungen wegen der potentiellen Verbrennungsgefahr im Scanner oder Klaustrophobie).

Die Versuchsteilnehmer erlangten durch Aushänge in Arztpraxen, besonders Diabetes-Schwerpunktpraxen, sowie an verschiedenen Stellen in der Lübecker Innenstadt und der Universität Kenntnis von der Studie. Auch durch Zeitungsannoncen und Internet-Foren wurden weitere Probanden gewonnen. Sie meldeten sich freiwillig und unterschrieben nach einer mündlichen und schriftlichen Aufklärung, über den Ablauf und die Risiken des Experimentes, die Einverständniserklärung.

Es meldeten sich 33 T2DM-Probanden. Wegen der Ausschlusskriterien mussten 17 abgelehnt werden. Da sich die Suche nach Probanden schwierig gestaltete, haben wir uns für eine Ausweitung der Rahmenbedingungen entschieden. So wurde ein Alter zwischen 38-57, ein BMI bis einschließlich 33 kg/m<sup>2</sup>, orale Antidiabetika und aufgrund der hohen Komorbidität von Diabetes mit kardiovaskulären Erkrankungen eine antihypertensive Medikation außer mit  $\beta$ -Blockern toleriert (Tabelle 1).

## Medikation der Probanden

Medikamente	Anzahl der Probanden
Sulfonylharnstoffe	2
Metformin	10
Sitagliptin	1
ACE-Inhibitoren	2
Hydrochlorothiazid	1
Xanthin-Oxidase-Inhibitoren	1
Statine	3
ASS	2

**Tabelle 1:** Medikation der Probanden und Anzahl derer, die jene während der Studie einnahmen.

Die Probanden wurden angewiesen, zu den jeweiligen Versuchstagen nüchtern (mindestens 8 Stunden fasten) und ausgeschlafen zu erscheinen (mindestens 6 Stunden Bettruhe) sowie am Vortag nicht exzessiv zu Essen bzw. Alkohol zu trinken. Außerdem sollten sie vor und während der Experiment-Wochen nicht zur Blutspende gehen oder an anderen Studien teilnehmen. Weiterhin wurden sie darüber aufgeklärt, sich am Tag der Untersuchung nicht aktiv am Straßenverkehr zu beteiligen. Die Aufwandsentschädigung für alle Untersuchungen inklusive der Voruntersuchung betrug 210 Euro pro Proband.

Diese Studie wurde gemäß der Deklaration von Helsinki (Weltärztebund, Version 2008) ausgerichtet und von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck geprüft und am 26.06.2008 bewilligt.

## **2.2 Studie**

Die Untersuchungen fanden in den Räumen der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie sowie in den Räumen der Klinik für Neuroradiologie der Universitätsklinik Lübeck statt.

### **2.2.1 Voruntersuchung**

Im Rahmen einer Voruntersuchung, die regulär eine Woche vor Versuchsstart stattfand, wurden die vorselektierten Probanden einer neuropsychiatrischen Diagnostik unterzogen. Ziel war es, Probanden mit psychiatrischen Erkrankungen und/oder kognitiven Störungen auszuschließen. Für die Diagnostik wurde der psychiatrische Fragebogen SKID-II (Strukturiertes Klinisches Interview) (Wittchen et al., 1997) und die deutsche Übersetzung des „Mini International Neuropsychiatric Interview“ (Sheehan et al., 1992) verwendet. Zur Identifikation kognitiver Störungen wurden der DemTect genutzt, ein objektives und zeitsparendes Demenz-Screening-Verfahren (Calabrese et al., 2000), sowie der CERAD-Plus (Consortium to Establish a Registry for Alzheimer’s Disease) (Memory Clinic, 2005). Die Ergebnisse des CERAD-Plus sowie deren Einflussgrößen (Alter, Dauer der Ausbildung und Geschlecht der Probanden) wurden in das Computerprogramm der Memory Clinic Basel implementiert. Das Programm berechnet mit Hilfe einer speziellen Statistik (PRESS- Predicted Residual Sum of Squares) für jede CERAD-Variable einen z-Wert. Dieser z-Wert zeigt, um wie viel die Leistung des Probanden von der Leistung abweicht, die aufgrund des Alters, Ausbildungsstandes und Geschlechts erwartet wird.

Weiterhin wurde den Studienteilnehmern in der Voruntersuchung das Prinzip des n-back Paradigmas erläutert (Kapitel 2.2.4). Direkt vor der MRT-Untersuchung erfolgte erneut eine Einführung.

### **2.2.2 Glucose Clamp Versuch**

Die Glucose Clamp Technik, 1979 von DeFronzo et al. publiziert, ist eine Methode um a) die  $\beta$ -Zell-Sensitivität auf Glucose (Hyperglykämischer Clamp) oder b) die Sensitivität der Gewebe auf Insulin (Euglykämischer Clamp) zu beschreiben. Bei diesem Experiment



wurde auf die Euglykämische Clamp Technik zurückgegriffen, bei der durch Infusion von Insulin dessen Plasmakonzentration akut angehoben und die Plasmaglucose durch eine variable Glucose-Infusion auf dem Nüchternniveau (Zielwert des Nüchtern-Blutzuckers: 80-100 mg/dl) konstant gehalten wird. Nach 30-50 Minuten ist durch die Insulininfusion die endogene Glucosefreisetzung supprimiert, sodass dann die metabolisierte Glucose der exogen zugeführten entspricht (DeFronzo et al., 1979).

Die Studie erfolgte randomisiert, balanciert und einfach-blind unter Anwendung der Glucose-Clamp-Technik. In dieser Arbeit wird die Hirnaktivierung während einer Arbeitsgedächtnisaufgabe unter Insulin Detemir-Gabe mit der unter Placebo-Bedingung verglichen. Die Probanden wurden zwei Versuchsbedingungen ausgesetzt:

Insulin Detemir (Levemir, Novo Nordisk) + Glucose 20%

Kochsalzlösung (Placebo-Bedingung).

Die Studienteilnehmer kamen im Abstand von mindestens 14 Tagen zu den Untersuchungen. Die Probanden wurden für den Morgen einbestellt. Im Arbeitsraum gebeten erhielten sie einen Kasack und eine Hose zur Reduzierung des Risikos, dass metallische Gegenständen versehentlich in das MRT-Gerät gelangen. Die Teilnehmer wurden für die exakte Berechnung der Insulin-Konzentration gewogen und konnten danach auf der MRT-Liege Platz nehmen, wo je Arm eine Venenverweilkanüle der Größe G20 bzw. G18 für den Glucose-Clamp gelegt wurde. Um den Blutzuckerspiegel nicht durch Bewegung zu verändern, wurde darauf geachtet, dass die Probanden während der ganzen Untersuchung lagen.

Der rechte Arm fungierte als Infusionsarm, über den die Ringerlösung (Berlin Chemie AG) als Trägerlösung für die Glucose sowie Insulin und Glucose ins Gefäßsystem gelangten. Dafür wurden eine entlüftete Infusionsleitung, zwei Druckleitungen und zwei 3-Wegehähne (Discofix® B.Braun, Melsungen AG, Germany) benötigt, über die die Insulinperfusorspritze und die 20%-Glucoselösung (Delta Select GmbH, Dreieich, Deutschland) zugeschalten wurden.

Die Insulinperfusorspritze beinhaltete 50ml 0,9% isotone Natriumchlorid-Lösung (Berlin Chemie AG) sowie eine gewichtsadaptierte Menge an Insulin: 90mU/kg Insulin Detemir (Levemir, Novo Nordisk A/S, Bagsvaerd, Dänemark). Die Spritze wurde mit drei

Combidyn Druckschläuchen (B.Braun, Melsungen AG, Germany) verbunden, entlüftet, in den Perfusor®compact Syringe Pump von B.Braun (Melsungen AG, Germany) eingesetzt und an einen der 3-Wegehähne angeschlossen. Die 20%-Glucoselösung ist über eine entlüftete Infusomatleitung (geht durch Infusomat®fms von B.Braun, Melsungen AG, Germany) und zwei Druckleitungen mit dem zweiten 3-Wegehahn verbunden.

An die Venenverweilkanüle des linken Arms wurde über einen entlüfteten Druck-Schlauch eine 3-Fach-Hahnbank (Smiths Medical Deutschland GmbH) angeschlossen, um darüber zu festen Zeiten Blut abzunehmen und alle fünf Minuten den Blutzucker (BZ) zu kontrollieren. Für die Spülung bzw. zum Offenhalten des Druckschlauches und des Katheters wurde Ringerlösung über eine entlüftete Infusionsleitung mit der Hahnbank verbunden.

Nach der ersten Blutabnahme begann der Versuch. Hierzu startete die Insulinapplikation synchron zur 2. Blutentnahme. Nach einem festen Schema wurde in den ersten acht Minuten der Insulinfluss manuell eingestellt, um möglichst schnell eine euglykämische Hyperinsulinämie zu erzeugen. Ab der 8. Minute blieb der Insulinfluss konstant bei  $2\text{mU}/\text{min} \times \text{kg}$ . So blieb die Hyperinsulinämie gleichmäßig aufrecht. Zum Ende der MRT-Untersuchung wurde die Insulinzufuhr abgeschaltet und parallel dazu eine letzte Blutentnahme durchgeführt.

Die Blutentnahmen erfolgten vom Start bis zum MRT-Beginn alle 20 Minuten, während der MRT-Untersuchung im 10-Minuten-Takt. Aus den Proben wurden im Zentrallabor der Universitätsklinik Lübeck die Konzentrationen von Plasma-Glucose, Serum-Insulin und C-Peptid bestimmt. Der Blutzucker wurde hingegen durchgehend alle fünf Minuten gemessen (HemoCue GmbH, Grossostheim, Deutschland), um ein euglykämisches Level bei  $5\text{mmol}/\text{l}$  zu erreichen und während der MRT-Aufnahmen aufrecht zu erhalten.

### **2.2.3 Funktionelle Magnetresonanztomografie**

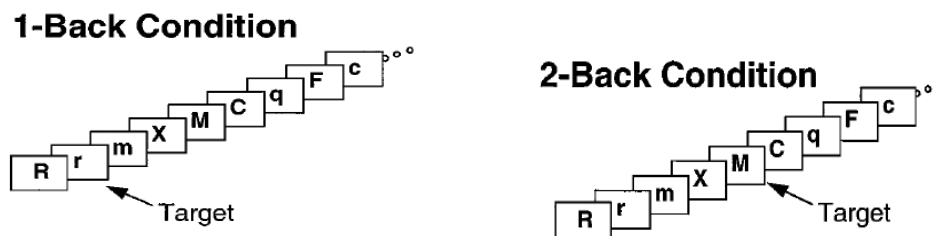
Bei dem in dieser Studie genutzten MR-Tomografen handelt es sich um ein 3 Tesla Gerät der Universitätsklinik Lübeck (Philips Achieva, Best, Niederlande). Es ist mit einer Standard-Kopfspule ausgestattet und liefert Ganzhirndarstellungen. T2\*-gewichtete Bilder werden mit Echo Planar Image- (EPI) Sequenzen gemessen, wobei die Repetitionszeit

(TR) 20-500ms und die Echozeit (TE) 30ms misst (flip angle 90°, Gesichtsfeld 240 x 240mm). In der Studie sind pro Untersuchung 2 Sessions gelaufen, die jeweils 8 Minuten andauerten. Dabei wurden 128 Volumenbilder (maps) aufgenommen (24 Volumenbilder pro n-back-Block, 8 pro Pause). Jedes Volumenbild bestand aus 35 Schichten (Anordnung parallel der Linie von anteriorer zur posteriorer Kommissur) mit einer Dicke von je 3mm (keine Lücken).

## 2.2.4 n-back Paradigma

Das n-back Paradigma ist ein gut definiertes, neuropsychologisches Paradigma zur Untersuchung des Arbeitsgedächtnisses (Awh et al., 1996; Braver et al., 1997; Owen et al., 2005), bei dem Stimuli (Buchstaben-Serie A-G) für eine kurze Zeit abgebildet werden, gefolgt von einer fixen Pause. Bei diesem Paradigma handelt es sich um einen sogenannten „continues performance task“, bei dem der Proband kontinuierlich aktiv ist.

Den Probanden wurde hierzu während der fMRT-Aufnahmen eine Brille aufgesetzt, über die sie das Paradigma präsentiert bekamen. Die Übung bestand aus zwei n-back Stufen mit je sechs randomisierten Blöcken. Beim 1-back sollten die Probanden drücken, wenn sich zwei Buchstaben (A-G) direkt wiederholten; beim 2-back, wenn der aktuelle Buchstabe dem vorletzten entsprach (siehe Abbildung 1). Letztere Übung setzt voraus, dass der Proband die gezeigten Buchstaben kurzzeitig speichert und mit den vorherigen vergleicht. Bei beiden Anordnungen erschienen die schwarzen Buchstaben vor einem grauen Hintergrund für jeweils 500ms. Die Zeit zwischen den einzelnen Buchstaben betrug 2500ms und konnte zum Drücken des Antwort-Knaufs genutzt werden.



**Abbildung 1:** Grafische Darstellung der n-back-Übungen. Die Probanden mussten reagieren, wenn 2 gleiche Buchstaben direkt (1-back) oder mit einem Signal Abstand (2-back) erschienen.

Sowohl die Reaktionszeit als auch die Fehlerrate wurden gemessen und ausgewertet. Parallel dazu sind, mit Hilfe des fMRT, die durch die Aufgabe aktivierten Hirnareale dargestellt worden. Diese Daten wurden ebenfalls gespeichert und zu einem späteren Zeitpunkt mit den fMRT-Aufnahmen im Ruhezustand verrechnet. Die Aufnahme im Ruhezustand des Gehirns, also ohne äußere Stimulation, erfolgte bei allen Probanden in der 1. Sitzung vor dem 1. n-back Paradigma und diente zeitgleich dem Ausschluss ischämischer Hirnschäden.

Nach Abschluss der MRT-Untersuchung konnten die Probanden frühstücken und sobald der Blutzucker stabil und in etwa dem Ausgangswert entsprach, den Arbeitsraum verlassen.

## **2.3 Statistische Auswertung**

### **2.3.1 Auswertung der fMRT-Daten**

Die Bilddaten sind mit SPM 8 (Statistical Parametric Mapping Version 8, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, London, UK) ausgewertet worden, einem Software-Programm speziell für fMRT-Daten. Diese Analyse setzt sich aus mehreren Arbeitsschritten zusammen: dem Pre-Processing, der Definition des statistischen Modells und der statistischen Analyse.

Bei der Vorbearbeitung der Bild-Daten nutzten wir das Block-Design, welches auf einer Differenzbildung zwischen Bedingungs- und Ruhephase beruht. Dadurch können Störfaktoren weitgehend eliminiert werden. Daran schließt sich das Pre-Processing an, welches unter Kapitel 1.6.3 erläutert wird. Nach der Vorbearbeitung, wird das statistische Modell (Design-Matrix) unter Berücksichtigung der Versuchs-Paradigmen definiert. Es wird für jedes Voxel eine univariate Signifikanzanalyse berechnet. Aus diesen einzelnen unabhängigen Analysen, kreiert das Programm die statistischen „Maps“ (SPMs) für jede Versuchsbedingung bei jedem Probanden. Im „first level“ sind die gemittelten Aktivierungen für alle vier Bedingungen (Detemir oder Placebo bei 1-back und 2-back) bei einem Probanden als Kontraste dargestellt. Diese individuellen Kontrastbilder werden im „second level“ von allen Versuchsteilnehmern zusammengefasst (random effects analysis)

und eine 2x2 faktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit den Faktoren „Insulin“ (Detemir, Placebo) und „Bedingung“ (1-back, 2-back) berechnet.

Im Anschluss können die Ergebnisse grafisch dargestellt werden, indem die Aktivierungen in Form von „Maximum intensity projections“ (MIPs) den ebenfalls vorbereiteten, anatomischen Bildern aufgelagert werden (Volume-Rendering). Somit sind die Aktivierungen exakt der entsprechenden anatomischen Struktur zugeordnet.

### **2.3.2 Auswertung der Verhaltensdaten und der Laborwerte**

Für die Analyse der Gedächtnisleistungen sowie der Laborwerte (Blutglucose, Serum-Insulin) ist das Superior Performing Software System (SPSS) Version 17.0 angewendet worden. Die Ergebnisse werden als Hauptergebnis  $\pm$  deren Standardabweichung (SD) sowie den errechneten p-Werten präsentiert. Dabei wurde ein p-Wert unter 0,05 als signifikant gewertet.

Die Auswertung der Laborwerte erfolgte durch eine ANOVA basierend auf den Faktoren „Bedingung“ (1-back, 2-back), „Insulin“ (Detemir, Placebo) sowie „Zeit“ (Zeitpunkt der Blutabnahme während fMRT-Messung).

Die Verhaltensdaten wurden über eine ANOVA mit den abhängigen Variablen „Reaktionszeit“ und „Fehlerrate“ während der Arbeitsgedächtnis-Aufgabe unter Beachtung der Faktoren „Bedingung“ und „Insulin“ ausgewertet. Für die Fehlerraten wurde mittels t-Test-Berechnung die Signifikanz der Unterschiede herausgestellt.

## **2.4 Analytische Methoden**

Die Blutglucosekonzentration wurde anhand der Glukose-Dehydrogenase-Methode gemessen (HemoCue Glucose 201 DM, Ängelholm, Schweden). Dabei betragen die intra- und inter-Assay Variationskoeffizienten  $< 3,5\%$  bzw.  $< 2,7\%$ .

Bei der ersten und letzten Blutentnahme sind Monovetten zur hämatologischen Untersuchung, Plasma- und Serumgewinnung sowie zur Blutzuckerbestimmung

abgenommen worden. Bei den anderen Blutentnahmen wurde die Plasmagewinnung unterlassen. Während der Untersuchung lagerten die EDTA-Monovetten in einer Kühlbox.

Die Blutentnahmen bearbeitete das Zentrallabor der Universitätsklinik Lübeck. Dabei wurde das Serum-Insulin mit einem kommerziellen Enzym-linked Immunoassay gemessen (Immulite, DPC, Los Angeles, USA). Die Variationskoeffizienten der intra- und inter-assays beträgt beim Insulin  $< 5,2\%$  und  $< 6,1\%$ .

Zur Sicherheit wurden EDTA- und Serumproben eingefroren. Dabei zentrifugierten die S-Monovetten®2,7ml K3E (EDTA) bei 1000 g und 4° Celsius 15 Minuten im Sigma 4K10, Laboratory Centrifuges und konnten im Anschluss in 1,5ml rote Eppendorf-Gefäße äquilibriert werden. Die S-Monovetten®2,6ml Z-Gel wurden mit 2500g bei 20° Celsius 10 Minuten zentrifugiert und in weiße 1,5ml Eppendorf-Gefäße pipettiert. Die Eppendorfgefäße lagern in Cryo-Boxen bei -80° Celsius im Tiefkühlschrank Sanyo im Keller des Zentralklinikums.

### **3 Ergebnisse**

#### **3.1 Ergebnisse der neuropsychologischen Diagnostik**

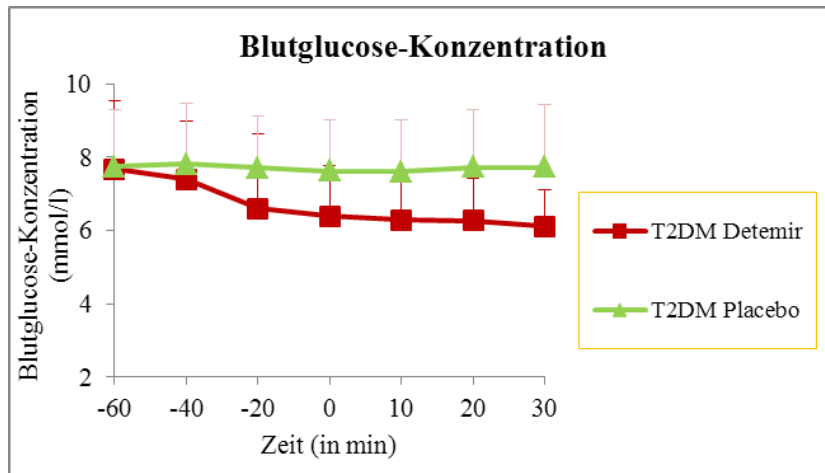
Die 16 Probanden wurden einer neuropsychologischen Voruntersuchung, bestehend aus SKID-II, M.I.N.I, DemTect und CERAD-Plus, unterzogen. Die Untersuchungen erbrachten keinen Hinweis auf das Vorliegen einer psychiatrischen Erkrankung. Weiterhin bestanden zum Zeitpunkt der Diagnostik keine kognitiven Störungen, wie die Auswertung der CERAD-Plus-Testbatterie zeigt. Insbesondere konnte kein signifikanter Unterschied der kognitiven Leistungsfähigkeit zwischen den einzelnen Probanden eruiert werden.

#### **3.2 Ergebnisse der Blutwerte**

##### **3.2.1 Blutglucose-Konzentration**

Die Blutglucose-Konzentrationen wurden sowohl unter Detemir- als auch Placebo-Bedingung regelmäßig bestimmt. In Abbildung 2 sind die Mittelwerte aller 16 Probanden über die Zeit aufgetragen. Dabei entspricht der Zeitpunkt „-60min“ dem Versuchsbeginn, die fMRT-Aufzeichnung erfolgte von Zeitpunkt „0min“ bis „30min“. Während der Placebo-Untersuchung wiesen die Probanden eine konstant höhere Blutglucose-Konzentration ( $6,97 \pm 0,38\text{mmol/l}$ ) auf als unter Detemir-Infusion ( $5,45 \pm 0,28\text{mmol/l}$ ) mit einer Signifikanz von  $p = 0,001$ . Eine Hypoglykämie ( $\text{BZ} < 2,77\text{mmol/l}$ ) bestand zu keinem Zeitpunkt.

Während der fMRT-Untersuchung (Zeitpunkt 0-30 Minuten) unterlagen die Blutzucker-Konzentrationen sowohl in der Placebo- als auch in der Detemir-Bedingung keinen Schwankungen. Sie konnten konstant ( $p > 0,1$ ) und euglykämisch aufrechterhalten werden.



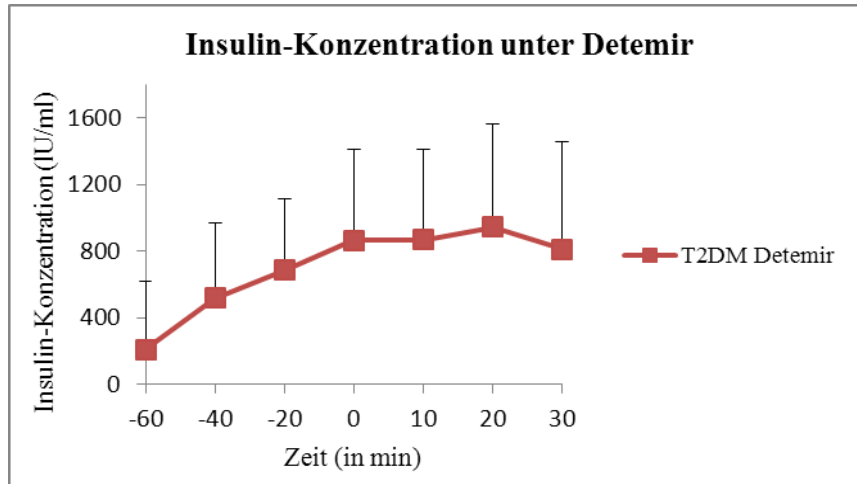
**Abbildung 2:** Blutglucose-Konzentration der Typ 2-Diabetiker in den Bedingungen "Detemir" und "Placebo" während der Glucose-Clamp-Untersuchung. Zeitpunkt „0“ markiert den Start der fMRT-Aufnahme, die nach 30 Minuten endete.

### 3.2.2 Blutinsulin-Konzentration

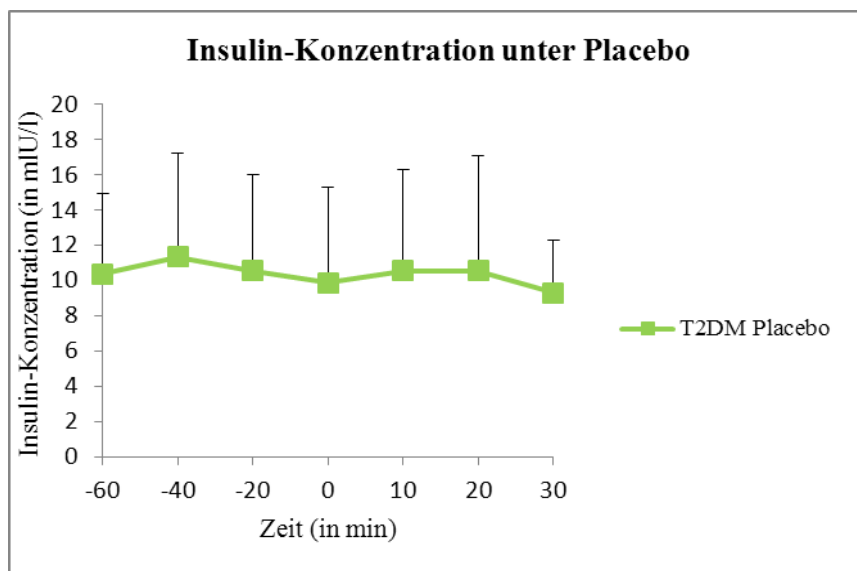
Die Blutinsulin-Konzentration wurde ebenfalls regelmäßig unter beiden Versuchsbedingungen erfasst. Der Zeitpunkt „-60min“ stellt die Blutinsulin-Konzentration zu Beginn der Untersuchung dar, ergo ohne Infusion einer Substanz. Während des Zeitfensters „0-30min“ erfolgte die fMRT-Aufzeichnung.

Es sind signifikante Unterschiede in der Seruminsulin-Konzentration zwischen der Detemir- und Placebo- Bedingung nachweisbar (Abbildung 3, 4). Unter Detemir-Infusion beträgt die Insulin-Konzentration  $1094,35 \pm 189,12$  mIU/l. Das entspricht in etwa dem 110-fachen Blutinsulin-Wert, der unter Placebo-Bedingung  $9,83 \pm 1,43$  mIU/l erreicht wurde.





**Abbildung 3:** Insulin-Konzentrationen der Typ 2-Diabetiker unter Detemir-Infusion während der Glucose-Clamp-Untersuchung. Zeitpunkt „0“ markiert den Start der fMRT-Aufnahme, die nach 30 Minuten endete.



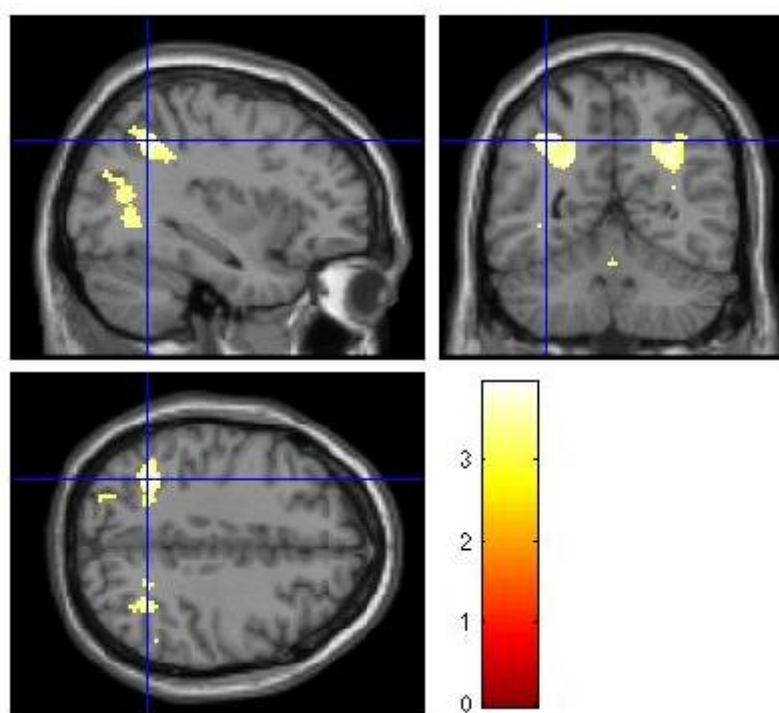
**Abbildung 4:** Insulin-Konzentrationen der Typ 2-Diabetiker unter Placebo während der Glucose-Clamp-Untersuchung. Zeitpunkt „0“ markiert den Start der fMRT-Aufnahme, die nach 30 Minuten endete.

### 3.3 fMRT-Ergebnisse

#### 3.3.1 Haupteffekt „Bedingung“ (2-back > 1-back)

Initial wird der Vergleich zwischen den Versuchsbedingungen 1-back und 2-back dargestellt. Während der 2-back Aufgabe kam es erwartungsgemäß, aufgrund des höheren Schwierigkeitsgrades, zu einer Mehraktivierung im Vergleich zur 1-back Bedingung. Die Verrechnung der Daten zum Haupteffekt „Bedingung“ (2-back > 1-back) zeigte signifikante BOLD-Aktivierungen in den Arbeitsgedächtnis-assozierten Hirnarealen: Lobus parietalis inferior beidseits, Precuneus beidseits sowie dorsolateraler präfrontaler Cortex rechts, wie in Tabelle 2 und farbkodiert in Abbildung 5 dargestellt.

#### Haupteffekt „Bedingung“ 2-back > 1-back



**Abbildung 5:** Aktivierung parietaler Regionen beidseits (2-back > 1-back). Haupteffekt „Bedingung“. Das blaue Kreuz markiert das lokale Maximum.

<b>Haupteffekt „Bedingung“ (2-back &gt; 1-back)</b>	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Z</b>	<b>t-Wert</b>	<b>p-Wert</b>
Lobus parietalis inferior links (BA 39/40)	-34	-54	42	4,21	<0,001
Lobus parietalis inferior rechts (BA 39/40)	28	-50	36	4,05	<0,001
Precuneus rechts (BA 7)	16	-78	48	3,82	<0,001
Precuneus links (BA 7)	-6	-74	50	3,73	<0,001
Gyrus frontalis medius (Dorsolateraler präfrontaler Cortex) (BA 46)	50	32	32	2,74	<0,007

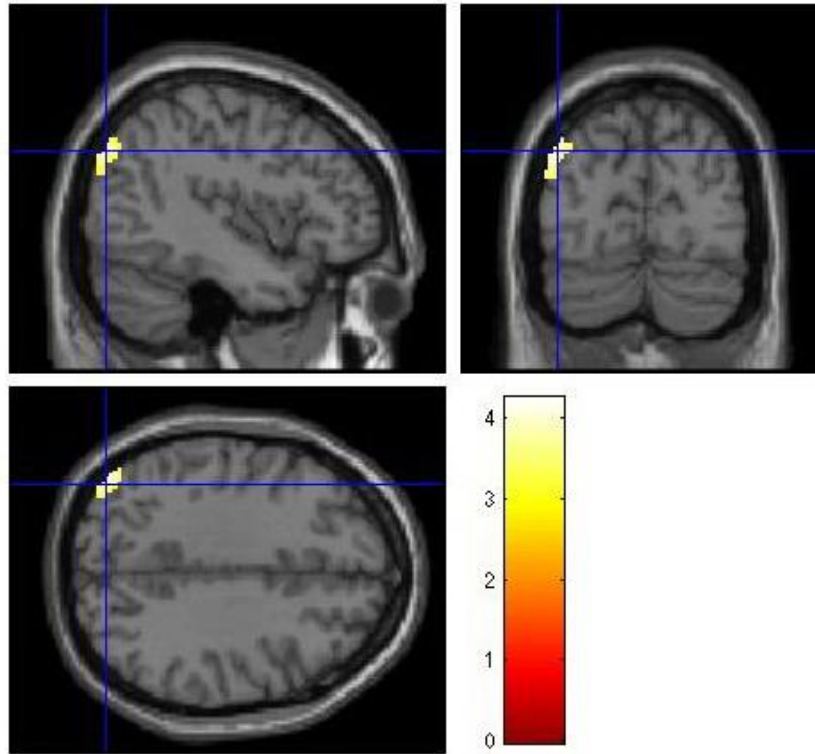
**Tabelle 2:** Areale mit Cluster starker Aktivierungen im Vergleich „Bedingung“: 2-back > 1-back. BA= Brodmann Areal; angegeben sind MNI Koordinaten (Montreal Neurological Institut).

### 3.3.2 Haupteffekt „Insulin“ (Detemir > Placebo)

Im Folgenden werden die Aktivierungen während der Bearbeitung der Arbeitsgedächtnisaufgaben unter Detemir-Infusion mit denen unter der Placebo-Bedingung verglichen. Es zeigte sich eine signifikante Mehraktivierung im Precuneus links unter Detemir-Infusion ( $p < 0,001$ ). Tabelle 3 und Abbildung 6 verdeutlichen dies grafisch.

## Haupteffekt „Insulin“

### Detemir > Placebo



**Abbildung 6:** Mehraktivierung im Bereich des Precuneus links (Detemir > Placebo). Das blaue Kreuz markiert das lokale Maximum.

Haupteffekt „Insulin“ Detemir > Placebo	X	Y	Z	t-Wert	p-Wert
Precuneus links BA 19	-42	-78	36	4,25	< 0.001

**Tabelle 3:** Areal mit Cluster starker Aktivierung im Vergleich „Insulin“: Detemir > Placebo. BA= Brodmann Areal; angegeben sind MNI Koordinaten (Montreal Neurological Institut).

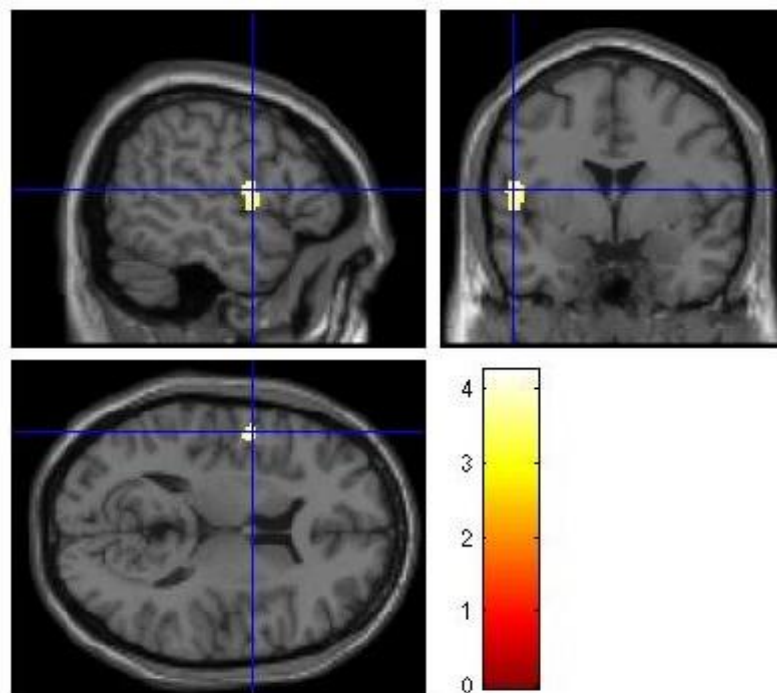
### 3.3.3 Haupteffekt „Insulin“ (Detemir > Placebo) während 2-back

Zur weiteren Untersuchung nahmen wir bei dem Vergleich Detemir – Placebo zusätzlich eine Differenzierung zwischen 1-back und 2-back vor. Während der 1-back Bedingung fanden wir unter Detemir eine signifikante Aktivierung im Bereich des Nucleus Caudatus [MNI: 14; 24; 12]. Auch wenn die Aktivierung signifikant war, verzichteten wir wegen der geringen Ausdehnung (9 Voxel) und, weil es sich aufgrund der Nähe zum Liquor cerebrospinalis um ein Artefakt handeln kann, auf eine weitere Darstellung.

Beim Vergleich zwischen Detemir und Placebo unter Bearbeitung der 2-back Bedingung, zeigte sich ein Areal mit einer signifikanten Mehraktivierung im Bereich des frontalen Cortex im präzentralen Gyrus links (Abbildung 7, Tabelle 4).

#### Haupteffekt „Insulin“ (Detemir > Placebo)

##### während 2-back



**Abbildung 7:** Mehraktivierung unter Detemir im Vergleich zu Placebo im Bereich des präzentralen Gyrus links während der 2-back Bedingung. Das blaue Kreuz markiert das lokale Maximum -52/0/12.

<b>Detemir &gt; Placebo 2-back Bedingung</b>	<b>X</b>	<b>Y</b>	<b>Z</b>	<b>t-Wert</b>	<b>p-Wert</b>
Präzentraler Gyrus links BA 6	-52	0	12	4,24	< 0,001

**Tabelle 4:** Areal mit Cluster starker Aktivierung im Vergleich Detemir versus Placebo während 2-back task. BA= Brodmann Areal; angegeben sind MNI Koordinaten (Montreal Neurological Institut).

### 3.4 Ergebnisse der Verhaltensdaten

#### 3.4.1 Reaktionszeit

Die Reaktionszeit, gemessen in Millisekunden, beschreibt den Zeitraum zwischen Buchstaben-Präsentation und Empfangen des Probanden-Signals mittels Tastaturdruck. Die Reaktionszeiten wurden sowohl unter Detemir- als auch unter Placebo-Infusion während der 1-back und 2-back Übung gemessen und verglichen (Tabelle 5).

Während der 2-back Übung waren die Reaktionszeiten erwartungsgemäß länger als während der einfacheren 1-back-Aufgabe.

Vergleicht man die Reaktionszeiten während der 2-back Übung, konnte unter Detemir-Infusion keine signifikante Reaktionszeit-Verbesserung (618.716ms;  $p=0,089$ ) im Vergleich zur Placebo-Bedingung (600.009ms;  $p=0,070$ ) nachgewiesen werden.

Auch die Zunahme der Reaktionszeit vom 1-back task auf den 2-back task, wird durch Detemir-Gabe (+46.302ms) nicht beeinflusst (Placebo: +46.399ms).

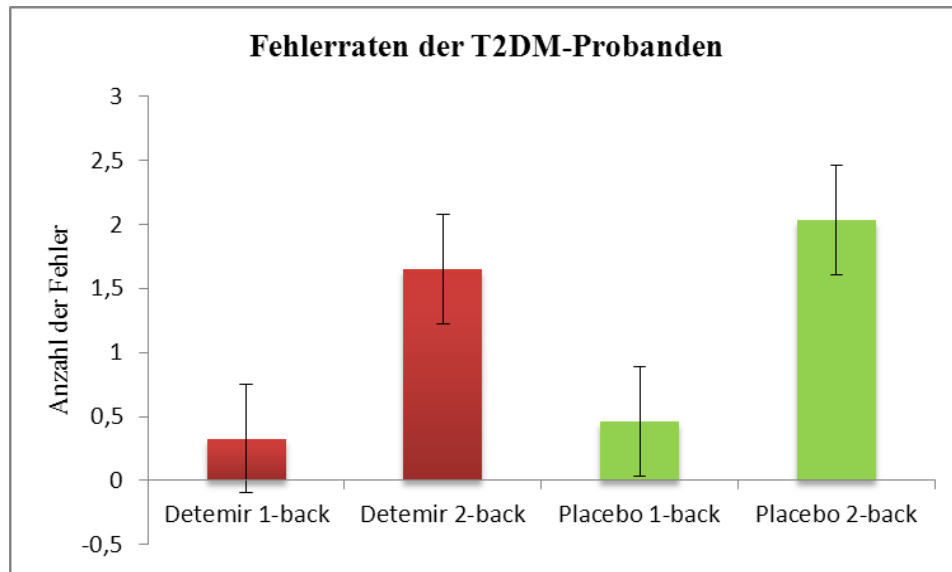
	Reaktionszeit (ms)		p-Werte
	1-back ± SD	2-back ± SD	
T2DM Detemir	572.41 ± 85.55	618.72 ± 117.24	0,09
T2DM Placebo	553.61 ± 115.89	600.01 ± 111.30	0,07

**Tabelle 5:** Reaktionszeiten in ms ± Standardabweichung (SD) der T2DM-Gruppe während Detemir- und Placebo-Bedingung. Vergleich durch gepaarte t-Tests mit einem Schwellenwert für Signifikanz bei  $p < 0,01$ .

### 3.4.2 Fehlerrate

In Abbildung 8 sind die Fehlerraten der T2DM-Patienten dargestellt. Sowohl in der Placebo- als auch in der Detemir-Bedingung weist die anspruchsvollere 2-back Aufgabe signifikant höhere Fehlerraten auf als der 1-back task ( $p < 0,05$ ).

Unter Detemir-Infusion kann in beiden n-back Aufgaben eine minimale Reduktion der Fehleranzahl verzeichnet werden, die allerdings nicht signifikant ist ( $p > 0,05$ ).



**Abbildung 8:** Fehlerraten der T2DM-Gruppe während der Glucose-Clamp-Untersuchung aufgedgliedert in die Bedingungen Detemir und Placebo sowie 1-back und 2-back Aufgabe.



## 4 Diskussion

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen bei Typ 2-Diabetikern erstens (Hypothese 1), während einer Arbeitsgedächtnisaufgabe (Haupteffekt „Bedingung“), eine gesteigerte neuronale Aktivität in Arbeitsgedächtnis-spezifischen Hirnarealen (inferiorer Parietallappen und Precuneus beidseits, Gyrus frontalis medius). Zweitens (Hypothese 2) fanden wir bei der Gabe von Detemir im Vergleich zu Placebo (Haupteffekt „Insulin“) ein signifikant erhöhtes BOLD-Signal im Bereich des Precuneus links. Drittens stellte sich unter Detemir-Infusion, während der 2-back Bedingung, eine Mehraktivierung im Bereich des präzentralen Gyrus links dar. Die Detemir-Gabe führte viertens, entgegen unserer Hypothese 3, zu keiner signifikanten Verbesserung der Reaktionszeit oder Fehlerhäufigkeit.

### 4.1 Mehraktivierung während der 2-back im Vergleich zur 1-back Bedingung

Die 2-back Bedingung erforderte von den Patienten ein deutlich höheres Maß an Aufmerksamkeit, Konzentration und Merkfähigkeit. Die Patienten mussten die Informationen speichern, mit hoher Geschwindigkeit memorisieren, die vorige nicht relevante Information als unwichtig klassifizieren, die relevante Information behalten, mit dem neuen Stimulus vergleichen und eine Entscheidung treffen. Während der Ausführung der 2-back Bedingung (Haupteffekt „Bedingung“), fanden wir stärkere Aktivierungen in den Bereichen des inferioren Parietallappen beidseits, im Precuneus beidseits und im Gyrus frontalis medius. Zurückzuführen ist dies auf die erhöhte Schwierigkeitsstufe der 2-back Aufgabe. Ein stärkerer Blutfluss für die Bewältigung der Aufgabe war erforderlich, was sich als erhöhtes BOLD-Signal widerspiegelte. Die Aktivierung dieser kortikalen Areale, erklärt sich durch deren Funktion bzw. durch den erhöhten kognitiven Schwierigkeitsgrad („load“).

Dem Lobus parietalis inferior werden Funktionen in der räumlichen, visuellen und selektiven Aufmerksamkeit zugeschrieben, die durch den höheren Schwierigkeitsgrad beim 2-back task stärker involviert sind. Dies untermauern Studien, die sowohl die Aktivierung als auch die Assoziation zwischen Schwierigkeitsgrad und Intensität der Aktivierung des inferioren Parietallappens durch n-back Aufgaben beschreiben (Braver et al., 2001; Emery et al., 2008). Der Precuneus ist unter anderem für das Abrufen von episodischen Inhalten verantwortlich, also bezogen auf unsere n-back Aufgabe für das Wiedererkennen von Items (Cavanna und Trimble, 2006). Besonders hohe Aktivierungen fanden andere Forscher beim Wiedererkennen älterer Items im Vergleich zu neuen Informationen (Habib und Lepage, 1999). Dies könnte eine weitere Begründung der Mehraktivierung während der 2-back Bedingung sein, da hier die Probanden den dritten mit dem ersten Buchstaben vergleichen mussten – der erste Buchstabe somit „älter“ war als in der 1-back Aufgabe, wo der 1. mit dem 2. Buchstaben verglichen wurde.

Das lokale Maximum im Gyrus frontalis medius entspricht dem Bereich des dorsolateralen präfrontalen Cortex rechts (DLPFC). Der DLPFC ist für die Verifizierung und Organisation von Informationen vor der Abspeicherung verantwortlich. Weiterhin vergleicht jenes Gebiet eher unstrukturierte, neue Stimuli mit bereits gespeichertem Material, und passt das Abgespeicherte dem Neuen in Form von Reorganisationsprozessen an (Owen et al., 2005). Demnach ist bei der Verarbeitung von unstrukturierteren Informationen wie dem 2-back task eine höhere Aktivität im DLPFC messbar als bei strukturierten, übersichtlichen Aufgaben wie dem 1-back. Dass sich die Aktivität in der rechten Hemisphäre des DLPFC darstellt, erscheint primär untypisch, da die rechte Hemisphäre meistens in räumliche und die linke Hirnhälfte in sprachliche (Buchstaben) Arbeitsgedächtnisprozesse involviert ist. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass unsere Probanden die Buchstaben im n-back eher als symbolisches Konstrukt anstatt als sprachliches Element erfassten. Dieses Phänomen beschreiben auch andere Forschergruppen, die bei vergleichbaren Aufgaben ebenfalls eine rechtsseitige Aktivierung des DLPFC vorfanden (Braver et al., 1997; Owen et al., 2005; Emery et al., 2008).

## 4.2 Mehraktivierung unter Detemir-Gabe im Vergleich zu Placebo

Unter Detemir-Infusion kommt es im Vergleich zu Placebo zu einer Mehraktivierung im Bereich des Precuneus links (Haupteffekt „Insulin“).

Der Precuneus wird, wie unter Kapitel 4.1 dargestellt, durch die n-back Aufgabe angesprochen, da er für das Abrufen von älteren, bekannten Items verantwortlich ist (Habib und Lepage, 1999). Weiterhin zeigten fMRT-Studien eine Aktivitätssteigerung des Precuneus bei Aufgaben, die auf visuelle Vorstellungskraft, episodisches Gedächtnis sowie Informationsverarbeitung abzielen und Aufmerksamkeit erfordern (Cavanna und Trimble, 2006; Zhang und Chiang-Shan, 2012). Es wird vermutet, dass der Precuneus aus drei funktionellen Anteilen besteht: dem dorsal-anterioren Part, der mit somatomotorischen Bahnen verknüpft ist; der posteriore Teil, der mit visuelle Bahnen assoziiert ist und der ventrale Precuneus, der Verbindungen zum DLPFC, zum inferioren Parietallappen und zum superioren Temporallappen hat (Zhang und Chiang-Shan, 2012). Der ventrale Precuneus entspricht dem Anteil, der durch die n-back Aufgaben primär aktiviert wird.

Das durch Detemir-Gabe eine höhere BOLD-Antwort im Precuneus erreicht wurde als unter Placebo, lässt sich vermutlich auf die zerebrale Funktion von Insulin zurückführen. Detemir kann aufgrund seiner biochemischen Struktur die Blut-Hirn-Schranke gut passieren (Rossetti et al., 2008). Dadurch könnten im Vergleich zur Placebo-Bedingung zerebrale Insulinrezeptoren gebunden und aktiviert werden. Insulin, welches primär für den Glucose-Stoffwechsel verantwortlich ist, wird sich im Gehirn wahrscheinlich dort anreichern, wo ein hoher Glucoseumsatz vorliegt. Ein hoher Glucoseumsatz liegt dann vor, wenn ein Areal aktiv ist, also vermehrt Energie „angefordert“ und umgesetzt wird (Clarke und Sokoloff, 1999). Dies entspricht während der n-back Aufgabe dem Gebiet des Precuneus. Ein erhöhter Energieumsatz könnte durch eine erhöhte Durchblutung realisiert werden, die als neuronale Mehraktivität in Form einer erhöhten BOLD-Antwort messbar ist (Logothetis et al., 2001). Möglicherweise hat zerebrales Insulin auch einen aktivitätssteigernden Effekt, indem es z. B. die Acetylcholin-Synthese fördert, welches für Gedächtnisleistungen relevant ist und die Apoptose von Neuronen reduziert (Sabayan et al., 2008). Weiterhin wird angenommen, dass zerebrales Insulin eine neuroprotektive Rolle einnimmt. Über Zwischenschritte soll es die Tau-Protein-Hyperphosphorylierung reduzieren und auf den Amyloid- $\beta$ -Abbau einwirken (Schubert et al., 2004; Deutsch et al.,

2006). Da wir in dieser Studie auf bildgebende Verfahren zurückgegriffen haben, können wir lediglich Hypothesen über die Wirkung auf molekularer Ebene bilden. Nachfolgende Forschungen, die diesen Aspekt untersuchen, sind erforderlich.

### **4.3 Mehraktivierung unter Detemir-Gabe im Vergleich zu Placebo während der 2-back Bedingung**

Unter der Detemir-Infusion beobachteten wir im Vergleich zu Placebo während der 2-back Bedingung eine signifikante Mehraktivierung im präzentralen Gyrus links. Der präzentrale Gyrus entspricht dem ventrolateralen präfrontalen Cortex. In der Literatur findet man Evidenz, dass diese Region stark in Arbeitsgedächtnis-Prozesse involviert ist (Owen et al., 2005). In einer Studie von Jonides et al., 1993, hatten gesunde Probanden die Aufgabe, sich die räumliche Zuordnung drei ähnlicher Stimuli zu merken, und nach einer Pause zu entscheiden, ob der neu angebotene Stimulus einem der Orte zuzuordnen ist. Bei der Ausführung dieser Aufgabe zeigte sich eine signifikante Aktivierung im ventrolateralen präfrontalen Cortex (Jonides J, 1993). Ähnlich zu diesem Aufbau funktioniert auch der 2-back task, bei dem die Probanden sich ebenfalls Stimuli merken müssen, mit neuen vergleichen und gegebenenfalls zuordnen müssen. Auch andere Studien, die unter Owen et al., 2005, zusammengefasst werden, beschreiben eine Aktivierung des ventrolateralen präfrontalen Cortex bei arbeitsgedächtnisspezifischen Aufgaben wie: Vergleiche und Beurteilung von Stimuli, task-Wechsel, Auswahl bestimmter Stimuli, Lernprozesse oder Informationsverarbeitung für das episodische Gedächtnis. Bezogen auf unsere Studie heißt das, dass der ventrolaterale präfrontale Cortex durch die 2-back Aufgabe per se aktiviert wird. Verstärkt wird dieser Effekt durch die Detemir-Gabe, sodass eine Mehraktivierung im Vergleich zur Placebo-Bedingung messbar ist.

#### **4.4 Diskussion der Verhaltensdaten**

In Auswertung der Variablen „Reaktionszeit“ und „Fehlerrate“ lässt sich keine Äquivalenz zu den fMRT-Ergebnissen darstellen. Warum sich der Vorteil eines erhöhten Sauerstoffumsatzes (BOLD) in den arbeitenden Hirnbereichen nicht in einer geringeren Fehlerrate und schnelleren Reaktionszeit widerspiegelt, kann mehrere Ursachen haben. Einerseits war die Anzahl der Patienten mit 16 relativ niedrig, sodass bei einer größeren Stichprobe vielleicht auch bei diesen beiden Werten ein Effekt messbar gewesen wäre. Andererseits war die Zeit zwischen Insulingabe und fMRT-Messung, in Bezug auf das protrahiert wirkende Detemir, kurz gewählt. Denkbar ist, dass in der kurzen Wirkzeit ein Effekt auf molekularer Ebene, sichtbar als erhöhte BOLD-Signalstärke, aber noch keine daraus resultierende, signifikante Verbesserung von Fehlerrate und Reaktionszeit erreicht werden konnte. Weiterhin gibt es Hinweise dafür, dass Insulin erst in höheren Konzentrationen einen Einfluss auf die kognitive Leistungsfähigkeit ausübt (Kern et al., 2001). Möglicherweise wurde Detemir in unserer Untersuchung zu gering dosiert, sodass es zu einer Mehraktivierung im Arbeitsgedächtnis unter Detemir kam, jedoch nicht zu einer messbaren Leistungssteigerung. Andere denkbaren Ursachen sind der geringe Schwierigkeitsgrad (Verzicht auf 3-back Aufgabe), die hohe nachgewiesene kognitive Leistungsfähigkeit der Probanden, Müdigkeit der Patienten, das laute und enge Umfeld des MRT sowie die Stresssituation, als Proband an einer Studie teilzunehmen.

#### **4.5 Reliabilität der Ergebnisse**

Damit die Werte reliabel sind, achteten wir zum Einen darauf Störfaktoren während des eigentlichen Experiments, also während der n-back Übungen 1 und 2, zu vermeiden. So hielten wir während der Aufgaben streng eine konstante Euglykämie ein und wiesen nach, dass unter Insulin Detemir die Probanden einer konstanten Hyperinsulinämie ausgesetzt waren (Abbildung 3 und 4). Um letzteres sicherzustellen bedienten wir uns der intravenösen Insulinzufuhr anstatt einer subcutanen oder intranasalen Gabe. Zum Anderen stellten wir durch Vortestung sicher, dass die Patientengruppe kognitiv homogen war und keine psychischen Erkrankungen vorlagen. Dies sicherten wir durch Auswertung der CERAD- und M.I.N.I-Testung. Besonderen Wert legten wir dabei auf den Ausschluss

einer Depression, wegen der bekannten reduzierten kognitiven Leistungsfähigkeit. Studien zufolge treten Depressionen bei Diabetes Mellitus gehäuft auf. Die permanent rezidivierenden Stoffwechsellstörungen stellen für den Körper Stress dar, der die Hypothalamus-Hypophysen-Achse aktivieren kann, weshalb es vermutlich in dieser Gruppe häufiger zu Depressionen kommt (Sabayan et al., 2008).

#### **4.6 Eingliederung der Ergebnisse in Forschung**

Durch die Gabe von Detemir kommt es bei der Ausführung einer Arbeitsgedächtnisaufgabe zu einer Verstärkung der zerebralen Durchblutung in Arealen, die spezifisch in Arbeitsgedächtnisprozesse involviert sind. Eine Leistungssteigerung hingegen war durch die Gabe von Detemir nicht nachweisbar. Warum wir trotz der Gabe von Insulin keine Leistungssteigerung fanden, kann durch vielschichtige Faktoren begründet sein, die unter 4.4 kritisch diskutiert sind. Die kognitive Leistungsfähigkeit der Patienten war sehr gut, was auch in den Einschlusskriterien gefordert war. Möglicherweise war der task so leicht gewählt, dass eine Leistungssteigerung nicht erfasst werden konnte.

Zusammenfassend konnten wir mit diesen Befunden zeigen, dass Insulin einen positiven Einfluss auf die Durchblutung aufgabenspezifischer Areale hat. Denkbar ist auch, dass andere Regionen bei bestimmten Aufgaben ebenfalls durch Detemir eine verbesserte Durchblutung erfahren, sofern dort eine höhere Leistung abgefordert wird. Dies ist allerdings Spekulation und bedarf weiterer Studien.

Unsere Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass bei der Alzheimer-Demenz (AD) ein relativer funktioneller zerebraler Insulinmangel eine Rolle spielen könnte. So beobachten Forscher bei Typ 2-Diabetikern eine Atrophie des Hippocampus (Gold et al., 2007). An Ratten-Versuchen bewirkt ein zerebraler Insulinmangel einen Synapsen-Abbau, der mit Defiziten im Arbeitsgedächtnis sowie episodischen und semantischen Gedächtnis einhergeht (Ryan und Williams, 1993; Arvanitakis et al., 2004). Ebenso werden endotheliale Schäden und oxidativer Stress auf einen relativen zerebralen Insulinmangel zurückgeführt (de la Monte et al., 2006; Gold et al., 2007) sowie die Freisetzung von Amyloid- $\beta$  und verstärkte Tau-Phosphorylierung durch Insulinmangel im Gehirn diskutiert (Jolivald et al., 2008).

Es gibt auch wissenschaftliche Hinweise dafür, dass die Alzheimer-Erkrankung das Risiko für Diabetes Mellitus erhöht. So lässt sich bei Patienten mit fortgeschrittener Demenz eine geringere zerebrospinale Insulinkonzentration bei gleichzeitig höheren Plasma-Insulin-Spiegeln im Vergleich zu Gesunden nachweisen (Craft et al., 1998; Gasparini und Xo, 2003; Steen et al., 2005). Studien legen die Vermutung nahe, dass Alzheimer-Demenz die Insulinresistenz und somit den T2DM verstärkt (Cole und Frautschy, 2007). Aufgrund der AD liegen erhöhte A $\beta$ -Level vor, die die Glycogen-Synthase-Kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) aktivieren. Jenes Enzym stört über eine Kaskade die Insulin-Signale (Eldar-Finkelman und Krebs, 1997). AD bewirkt weiterhin durch seine Pathologie eine chronische Entzündung, sodass Zytokine wie Interleukine oder Tumornekrose-Faktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) im Serum ansteigen. Der TNF $\alpha$  hemmt zum einen Insulin-like Growth Factor-1, was zu einer Hemmung des A $\beta$ -Abbaus und somit zu einer Verstärkung der Demenz führen kann. Zum anderen ist durch ihn die Induktion einer Insulinresistenz und Reduktion Insulin-ähnlicher alternativer Stoffwechselwege, z.B. über Insulinrezeptor-Substrat-1, denkbar (Cole und Frautschy, 2007; Sabayan et al., 2008). Ferner ist bei Alzheimer-Patienten die Anzahl der Insulin-Rezeptoren im Gehirn reduziert (Craft et al., 1998). Ob diese Erscheinungen nun Ursache oder Folge der kognitiven Degeneration sind, wird gegenwärtig noch kontrovers diskutiert.

Aus diesen Erkenntnissen ließe sich ableiten, bei T2DM und besonders bei Patienten mit T2DM und AD eine Insulintherapie einzuführen. Es gibt Hinweise dafür, dass sich eine Kombinationstherapie mit Insulin im Vergleich zu einer alleinigen oralen antidiabetischen Therapie positiv auf milde kognitive Defizite auswirkt (Plastino et al., 2010). Mit dieser Studie konnten wir experimentell zeigen, dass durch Insulin Detemir arbeitsgedächtnisspezifische Areale während einer Arbeitsgedächtnisaufgabe besser durchblutet werden, was langfristig zu einer kognitiven Leistungssteigerung dieser Gebiete führen könnte. Ein positiver Nebeneffekt ist, dass Detemir einen gewichtsreduzierenden Effekt hat, wie eine EEG-Studie von Hallschmid herausgearbeitet hat (Hallschmid et al., 2010). Dies ist gerade für T2DM-Patienten von Vorteil. Der Therapiefortschritt zeigt aber auch neue Probleme auf:

Erstens kann die Umsetzbarkeit des Insulinspritzens gerade bei kognitiv eingeschränkten Patienten zu Schwierigkeiten führen und erfordert von den Patienten eine hohe Compliance.

Zweitens wird durch die exogene Insulinzufuhr die endogene Produktion reduziert und es können Komplikationen der Insulintherapie auftreten, wie Hypoglykämien und Lipodystrophien an den Injektionsstellen. Bezüglich der Hypoglykämie-Gefahr bietet Insulin Detemir im Vergleich zu anderen Langzeit-Insulinen allerdings den Vorteil, dass sein Wirkmaximum in den frühen Morgenstunden - anstatt gegen 2 Uhr – zu erwarten ist. Da zu dieser Zeit bereits die endogene Kortisolsynthese begonnen hat (steiler Konzentrationsanstieg im Blut zwischen 3-10 Uhr) (Knepel, 2005), ist eine Hypoglykämie-Gefahr unter Detemir praktisch nicht vorhanden. Hinsichtlich der Spritz-Compliance und Lipodystrophie-Gefahr liefert die Forschung alternative Wege der Insulin-Zufuhr. So konnte Benedict et al., 2007, eine vergleichbare Wirkung mittels intranasaler Insulin-Gabe erzeugen. Diese Studie befasste sich jedoch nur mit den Kurzzeit-Insulinen Actrapid und Aspart und sollte daher mit Insulin Detemir wiederholt werden.

Ein dritter Diskussionspunkt für die breitere Verwendung des Insulins Detemir ist der Kostenfaktor. Mit Wirkung vom 15. Juli 2010 darf Insulin Detemir (Levemir<sup>®</sup>, Novo Nordisk) bei Typ 2-Diabetes nur noch zu Lasten der Kassen verordnet werden, wenn keine Mehrkosten im Vergleich zu Humaninsulin anstehen (Kietzmann, 2010). Der Preis für 10 Insulin-Pens á 3ml Humaninsulin Actrapid liegt zwischen 89,64 Euro und 96,20 Euro, die gleiche Menge Insulin Detemir kostet über 140 Euro. Da laut Kassenärztlicher Vereinigung (KV) Humaninsulin Mittel der ersten Wahl bei insulinpflichtigem Typ 2-Diabetes ist, wird Detemir nicht übernommen (Berlin, 2008).

Zusammenfassend ist eine Therapieempfehlung für eine frühzeitige Gabe von Insulin bei T2DM nicht abzuleiten. Hierfür sind noch weitere Studien erforderlich.

Kritisch angemerkt werden muss, dass es Arbeitsgruppen gibt, die sich gegen einen Zusammenhang zwischen Alzheimer-Demenz und Diabetes Mellitus Typ 2 aussprechen. Forscher der USA untersuchten Gesunde und Alzheimer-Patienten über zwei Jahre hinweg und konnten keine Assoziation zwischen Metabolischen Syndrom und kognitiven Defiziten feststellen (Watts et al., 2013). Kuwahara et al., 2013, proklamiert, dass nicht die Insulinresistenz sondern die vaskulären Risikofaktoren des Diabetes Mellitus zu einer Dysfunktion in der Blut-Hirn-Schranke, Amyloid- $\beta$ -Deposition und zerebralen Minderperfusion führen und somit die neuronalen Defizite bewirken (Kuwahara et al., 2013). Letzteres bestätigt auch ein Review, welches sich mit 15 Studien zu dem Thema T2DM und AD befasste. Hier wurde vertreten, dass Typ 2-Diabetes vor allem mit



zerebralen Infarkten vergesellschaftet ist, der Zusammenhang mit kognitiven Defiziten also eher vaskulärer Genese sei. Dabei räumten sie zusätzlich ein, dass die Infarkte nicht zwangsläufig in einer Alzheimer-typischen Pathologie enden (Vagelatos und Eslick, 2013) müssen.

Allerdings stellte eine japanische Arbeitsgruppe durch Untersuchungen an Mäusen fest, dass einerseits Insulinresistenz die Amyloid- $\beta$ -Abspaltung aus APP fördert und andererseits Amyloid- $\beta$  direkt in den Insulinstoffwechsel eingreift (Takeda, 2012). Zu ähnlichen Ergebnissen gelang auch ein Review aus Italien (Vignini et al., 2013). Wissenschaftler um Lei Feng wiesen mit der Singapore Longitudinal Ageing Study-2, die von 2009 bis 2010 lief, eine Assoziation zwischen Metabolischen Syndrom und milden kognitiven Defiziten nach. Die Assoziation ist signifikanter bei Probanden, die zusätzlich eine Mutation im Apo-E4-Gen, einem evidenzbasierten Risikofaktor für early-onset AD, aufweisen (Feng et al., 2012). Die Ergebnisse unserer Studie unterstützen die These, dass durch die Gabe von Insulin taskspezifische Hirnaktivität vermehrt wird. Umgekehrt könnte man vermuten, dass Insulinmangel ab einer bestimmten Konzentration zu einer Reduktion der Aktivierung führt.

#### **4.7 Ausblick**

Letztendlich muss, aufgrund der weltweit rapiden Zunahme von Diabetes Mellitus und Demenz, die Forschung daran forciert werden. Dabei sollte besonderer Wert darauf gelegt werden, ob die Insulinresistenz oder die vaskulären Folgen des Diabetes Mellitus die kognitiven Defizite verursachen und ob Alzheimer-Demenz Folge oder Ursache des T2DM ist. Bei Aufdeckung der genauen pathophysiologischen Zusammenhänge könnte gezielt und frühzeitig medikamentös der Komorbidität entgegengewirkt werden.

Um die Ergebnisse unserer Studie zu untermauern und zu verfeinern, empfehlen wir ein weiterführendes Experiment mit größerer Probandenzahl. Darin sollte der Vorteil von Insulin Detemir aufgegriffen und die bestmögliche Dosierung und ggf. Kombination mit oralen Antidiabetika - unter Einbeziehung der molekularen Ebene von Lernen und Gedächtnis bei T2DM und AD – untersucht werden.

## 5 Zusammenfassung

Typ 2-Diabetiker weisen ein erhöhtes Risiko auf, im Verlauf der Erkrankung kognitive Defizite zu entwickeln. Diverse Studien beschreiben, dass eine exogene Insulin-Zufuhr einen positiven Effekt auf neuronale Prozesse und kognitive Leistungsfähigkeit bei Normalprobanden haben kann. In dieser Studie soll untersucht werden, ob Typ 2-Diabetiker durch Insulin-Gabe (Detemir) einen kognitiven Benefit erfahren.

Zur Überprüfung dieser Hypothese infundierten wir 16 Typ 2-Diabetikern kontinuierlich Insulin Detemir und Glucose intravenös, um eine hyperinsulinämische Euglykämie zu erzeugen (Clamp-Technik). Die Probanden wurden während des Clamps einer Arbeitsgedächtnis-Aufgabe (n-back) unterzogen. Die neuronale Aktivierung wurde mit Hilfe funktioneller MR-Bildgebung aufgezeichnet. Als Kontrollgruppe diente ein zweiter Versuchstag, an dem denselben Probanden bei gleichem Versuchsaufbau Placebo infundiert wurde. Die Studie ist randomisiert, einfach-verblindet und Placebo-kontrolliert. Das Studiendesign entspricht einer 2x2 faktoriellen ANOVA (Detemir/Placebo x 1-back/2-back).

Unter Detemir-Infusion zeigte sich eine signifikante Mehraktivierung (BOLD-Antwort) sowohl im Precuneus links als auch während der 2-back Übung im präzentralen Gyrus links. Diese Hirnareale sind Teile des Arbeitsgedächtnisses, welches durch die n-back Übung angesprochen wird.

Die Studie zeigt, dass durch die Gabe von Insulin Detemir die lokale Stoffwechselsituation (BOLD-Antwort) und somit die neuronale Aktivität in Arbeitsgedächtnis-spezifischen Hirnarealen gesteigert wird. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um den genauen Wirkmechanismus von Insulin auf kognitive Fähigkeiten zu erforschen.

## 6 Literaturverzeichnis

**Alafuzoff I, Aho L, Helisalmi S, Mannermaa A, Soininen H. 2009.** Beta-amyloid deposition in brains of subjects with diabetes. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 35(1), 2009, S. 60-68.

**Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Echwald S, Pedersen O. 1993.** Aminoacid polymorphism of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet.* 342(8875), 1993, S. 828-832.

**Alzheimer Europe. 2009.** EuroCoDe: Prevalence of dementia in Europe. [Online] 2009. [Zitat vom: 14. Januar 2013.] <http://alzheimer-europe.org/DEa/Research/European-Collaboration-on-Dementia/Prevalence-of-dementia>.

**Alzheimer-Gesellschaft, Deutsche. 1999.** *Die neurobiologischen Grundlagen der Alzheimer-Krankheit*. Berlin : Deutsche Alzheimer-Gesellschaft e.V., 1999.

**American Diabetes Association. 2004.** Diabetic nephropathy. Clinical practice recommendations. *Diabetes Care.* 2004, Suppl. 1.

**Arvanitakis Z, Schneider JA, Wilson RS, Arnold SE, Wang Z, Bennett DA. 2006.** Diabetes is related to cerebral infarction but not to AD pathology in older persons. *Neurology.* 67(11), 2006, S. 1960-1965.

**Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Evans DA, Bennett DA. 2004.** Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Arch Neurol.* 61(5), 2004, S. 661-666.

**Awh E, Jonides J, Smith EE, Schumacher EH, Koeppel RA, Katz S. 1996.** Dissociation of storage and rehearsal in verbal working memory: evidence from positron emission tomography. *Psychol Sci.* 7(1), 1996, S. 25-31.

**Baddeley AD, Gathercole SE. 1993.** *Working memory and language*. s.l. : Hove: Erlbaum, 1993.

**Baddely A, Allen R, Vargha-Khadem F. Neuropsychologia.** Is the hippocampus necessary for visual and verbal binding in working memory? *2010.* 48, *Neuropsychologia*, S. 1089-1095.

**Banerji MA, Lebovitz HE. 1989.** Insulin-sensitive and insulin-resistant variants in NIDDM. *Diabetes.* 38(6), 1989, S. 784-792.

**Benedict C, Hallschmid M, Schultes B, Born J, Kern W. 2007.** Intranasal insulin to improve memory function in humans. *Neuroendocrinology.* 86(2), 2007, S. 136-142.

**Berlin, Kassenärztliche Vereinigung. Mai 2008.** *Arzneimittelverordnung - Hinweise zur Verordnung von Humaninsulin bei Typ-2-Diabetikern.* Mai 2008.

**Bondi MW, Houston WS, Eyster LT, Brown GG. 2005.** fMRI evidence of compensatory mechanisms in older adults at genetic risk for Alzheimer disease. *Neurology.* 64(3), 2005, S. 501-508.

**Braver TS, Barch DM, Kelley WM, Buckner RL, Cohen NJ, Miezin FM, Snyder AZ, Ollinger JM, Akbudak E, Conturo TE, Petersen SE. 2001.** Direct comparison of prefrontal cortex regions engaged by working and long-term memory tasks. *Neuroimage.* 14, 2001, S. 48-59.

**Braver TS, Cohen JD, Nystrom LE, Jonides J, Smith EE, Noll DC. 1997.** A parametric study of prefrontal cortex involvement in human working memory. *Neuroimage.* 5(1), 1997, S. 49-62.

**Buée L, Bussièrè T, Buée-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. 2000.** Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev.* 33(1), 2000, S. 95-130.

**Burns JM, Donnelly JE, Anderson HS, Mayo MS, Spencer-Gardner L, Thomas G,...&, Brooks WM. 2007.** Peripheral insulin and brain structure in early Alzheimer disease. *Neurology.* 69(11), 2007, S. 1094-1104.

**Calabrese P, Kessler J, Kalbe E. 2000.** DemTect. 2000.

**Campayo A, Gómez-Buiel CH, Lobo A. 2011.** Diabetes and Depression. *Curr Psychiatry Rep.* 13(1), 2011, S. 26-30.

**Camps I, Biarnés J, Fernández-Real JM, Insa R, Soler J, Fernández Castaner M. 1999.** Insulin resistance and metabolic syndrome in first-degree relatives of patients with NIDDM. *Med Clin (Barc)*. 112(8), 1999, S. 281-284.

**Cavanna AE, Trimble MR. 2006.** The precuneus: a review of its functional. *Brain*. 129, 2006, S. 564-583.

**Cederholm J, Wibell L. 1985.** Evaluation of insulin release and relative peripheral resistance with use of the oral glucose tolerance test: a study in subjects with normoglycaemia, glucose intolerance and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest*. 45(8), 1985, S. 741-751.

**Centers for Disease Control and Prevention. 2011.** *National diabetes fact sheet: national estimates and general information on diabetes and prediabetes in the United States*. Atlanta : U.S. Department of Health and Human Services, 2011.

**Clarke DD, Sokoloff L. 1999.** Circulation and Energy Metabolism of the Brain. [Buchverf.] Agranoff BW, Albers RW, et al. Siegel GJ. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects. 6th edition*. Philadelphia : Lippincott-Raven, 1999.

**Cohen JD, Forman SD, Braver TS, Casey BJ, Servan-Schreiber D, Noll DC. 1993.** Activation of the prefrontal Cortex in a nonspatial working memory task with functional MRI. *Human Brain Map*. 1(4), 1993, S. 293-304.

**Cole GM, Frautschy SA. 2007.** The role of Insulin and neurotrophic factor signaling in brain aging and Alzheimer's Disease. *Experimental Gerontology*. 42(1-2), 2007, S. 10-21.

**Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW,...&, Pericak-Vance MA. 1993.** Gene Dose of Apolipoprotein E Type 4 Allele and the Risk of Alzheimer's Disease in Late Onset Families. *Science*. 261(5123), 1993, S. 921-923.

**Craft S. 2009.** The Role of Metabolic Disorders in Alzheimer Disease and Vascular Dementia. *Archives of Neurology*. 66(3), 2009, S. 300-305.

**Craft S, Peskind E, Schwartz MW, Schellenberg GD, Raskind M, Pate Jr D. 1998.** Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. *Neurology*. 50(1), 1998, S. 164-168.

**Cukierman T, Gerstein HC, Williamson JD. 2005.** Cognitive Decline and Dementia in Diabetes-systemic overview of prospective observational studies. *Diabetologia*. 48(12), 2005, S. 2460-2469.

**de la Monte SM, Tong M, Lester-Coll N, Plater M Jr, Wands JR. 2006.** Therapeutic rescue of neurodegeneration in experimental type 3 diabetes: relevance to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 10(1), 2006, S. 89-109.

**DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. 1979.** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 237(3), 1979, S. E214-E223.

**Deutsch SI, Rosse RB, Lakshman RM. 2006.** Dysregulation of tau phosphorylation is a hypothesized point of convergence in the pathogenesis of Alzheimer's disease, frontotemporal dementia and schizophrenia with therapeutic implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 30(8), 2006, S. 1369-1380.

**Deutsche Diabetes-Gesellschaft. 2009.** *Evidenzbasierte Leitlinie: Medikamentöse antihyperglykämische Therapie des Diabetes mellitus Typ 2*. 2009.

—. **09/2011.** *Evidenzbasierte Leitlinie: Therapie des Typ-1-Diabetes*. 09/2011.

—. **10/2012.** *Praxisleitlinie: Diabetes mellitus Typ 2*. 10/2012.

**diabetesDE. 2011.** *Deutscher Gesundheitsbericht: Diabetes 2011*. s.l. : Kirchheim + Co GmbH, 2011.

**Dickerson BC, Sperling RA. 2008.** Functional abnormalities of the medial temporal lobe memory system in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: Insights from functional MRI studies. *Neuropsychologia*. 46(6), 2008, S. 1624-1635.

**Donahue RP, Orchard TJ. 1992.** Diabetes mellitus and macrovascular complications. An epidemiological perspective. *Diabetes Care*. 15(9), 1992, S. 1141-1155.

**Drzezga A, Grimmer T, Henriksen G, Stangier I, Perneczka R, Diehl-Schmid J,...&, Kurz A. 2008.** Imaging of amyloid plaques and cerebral glucose metabolism in semantic dementia and Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 39(2), 2008, S. 619-633.

- Eldar-Finkelman H, Krebs EG. 1997.** Phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by glycogen synthase kinase 3 impairs insulin action. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA.* 94(18), 1997, S. 9660-9664.
- Emery L, Heaven TJ, Paxton JL, Braver TS. 2008.** Age-related changes in neural activity during performance matched working memory manipulation. *Neuroimage.* 42(4), 2008, S. 1577-1586.
- Fehm HL, Perras B, Smolnik R, Kern W, Born J. 2000.** Manipulating neuropeptidergic pathways in humans: a novel approach to neuropharmacology. *Eur J Pharmacol.* 405(1-3), 2000, S. 43-54.
- Feng L, Chong MS, Lim WS, Lee TS, Collinson SL, Yap P, Ng TP. 2012.** Metabolic Syndrome and Amnesic Mild Cognitive Impairment: Singapore Longitudinal Ageing Study-2 Findings. *J Alzheimers Dis.* 2012.
- Feng R, Wang H, Wang J, Shrom D, Zeng X, Tsien JZ. 2004.** Forebrain degeneration and ventricle enlargement caused by double knockout of Alzheimer's presenilin-1 and presenilin-2. *PNAS.* 101(21), 2004, S. 8162-8167.
- Gasparini L, Xu H. 2003.** Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 26(8), 2003, S. 404-406.
- Gliebus G, Lippa CF et al. 2007.** The influence of beta-blockers on delayed memory function in people with cognitive impairment. *Am J Alzheimers Dis other Demen.* 22(1), 2007, S. 57-61.
- Goate A. 2006.** Segregation of a missense mutation in the amyloid beta-protein precursor gene with familial Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 9(3), 2006, S. 341-347.
- Goedert M, Spillantini MG, Cairns NJ, Crowther RA. 1992.** Tau Protein of Alzheimer paired helical filaments: abnormal phosphorylation of all six brain isoforms. *Neuron.* 8(1), 1992, S. 159-168.
- Gold SM, Dziobek I, Sweat V, Tirsi A, Rogers K, Bruehl H,...&, Convit A. 2007.** Hippocampal damage and memory impairments as possible early brain complications of type 2 diabetes. *Diabetologia.* 50(4), 2007, S. 711-719.

- Habib R, Lepage M. 1999.** Novelty assessment in the brain Psychology Press. *Memory, Consciousness and the Brain*. London : Psychology Press, 1999, S. 265-277.
- Haffner SM. 2006.** The metabolic syndrome: inflammation, diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Am J Cardiol.* 97(2a), 2006, S. 3A-11A.
- Hallschmid M, Jauch-Chara K, Korn O, Mölle M, Rasch B, Born J, Schultes B, Kern W. 2010.** Euglycemic Infusion of Insulin Detemir Compared With Human Insulin Appears to Increase Direct Current Brain Potential Response and Reduces Food Intake While Inducing Similar Systemic Effects. *Diabetes.* 59(4), 2010, S. 1101-1107.
- Harigaya Y, Shoji M, Shirao T, Hirai S. 1996.** Disappearance of acting-binding protein, drebrin, from hippocampal synapses in alzheimer´s disease. *J Neurosci Res.* 43(1), 1996, S. 87-92.
- Hautzel, H. 2008.** Kognitionsinduzierte Modulation der Neurotransmission: Ergebnisse zum Arbeitsgedächtnis. [Online] 35. Jahrestagung der Rheinisch-Westfälischen Gesellschaft für Nuklearmedizin, 05. 12. 2008. [Zitat vom: 14. 10. 2011.] [www.rwgn.de/jahrestagung/35/vortrag/V06\\_35.RWGN.pdf](http://www.rwgn.de/jahrestagung/35/vortrag/V06_35.RWGN.pdf).
- Havelund S, Plum A, Ribel U, Jonassen J, Volund A, Markussen J, Kurtzhals P. 2004.** The mechanism of protraction of insulin detemir, a long-acting, acylated analog of human insulin. *Pharm Res.* 21(1), 2004, S. 1498-1504.
- Havrankova J, Roth J, Brownstein M. 1978.** Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature.* 272, 1978, S. 827-829.
- Hennige AM, Sartorius T, Schritter O, Preissl H, Fritsche A, Ruth P, Höring HU. 2006.** Tissue selectivity of insulin detemir action in vivo. *Diabetologia.* 49(6), 2006, S. 1274-1282.
- Heymann A, Fillenbaum GG, Welsh-Bohmer KA, Gearing M, Mirra SS, Mohs RC, Peterson BL, Pieper CF. 1998.** Cerebral infarcts in patients with autopsy-proven Alzheimer´s disease: Cerad, part XVIII. *Neurology.* 51(1), 1998, S. 159-162.
- Hong M, Lee VMY. 1997.** Insulin and insulin-like growth factor-1 regulate tau phosphorylation in cultured human neurons. *J Biol Chem.* 1997, 272, S. 19547-19553.



**Hopkins DF, William G. 1997.** Insulin receptors are widely distributed in human brain and bind human and porcine insulin with equal affinity. *Diabet Med.* 14(12), 1997, S. 1044-1050.

**ICD-10-GM, F00-F09. Version 2013.** Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, German Modification. [Hrsg.] Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information. Version 2013.

**International Diabetes Federation. 2012.** *The IDF Diabetes Atlas - 5th edition.* 2012.

**IQWiG. 2009.** Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen. *Abschlussbericht: Nichtmedikamentöse Behandlung der Alzheimer Demenz.* 2009.

**Jolivald CG, Lee CA, Beiswenger KK, Smith JL, Orlov M, Torrance MA, Masliah E. 2008.** Defective Insulin Signaling Pathway and Increased Glycogen Synthase Kinase-3 Activity in the Brain of Diabetic Mice: Parallels With Alzheimer's Disease and Correction by Insulin. *J Neurosci Res.* 86(15), 2008, S. 3265-3274.

**Jonides J, Smith EE, Koeppel RA, Awh E, Minoshima S, Mintun MA. 1993.** Spatial working memory in humans as revealed by PET. *Nature.* 363, 1993, S. 623-625.

**Kahn CR. 1985.** The Molecular Mechanism of Insulin Action. *Annu Rev Med.* 36, 1985, S. 429-451.

**Kern W, Peters A, Fruehwald-Schultes B, Deininger E, Born J, Fehm HL. 2001.** Improving influence of insulin on cognitive functions in humans. *Neuroendocrinology.* 74, 2001, S. 270-280.

**Kietzmann D. 2010.** Insulinanaloga endgültig raus. [Online] 14. 07. 2010. [Zitat vom: 13. 09. 2010.] <http://www.apotheke-adhoc.de/nachrichten/politik/11221.html>.

**Knepel W. 2005.** Nebennierenrindenhormone - Synthese und Sekretion. [Buchverf.] K Aktories, et al. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie.* München : Elsevier GmbH, 2005, Bd. 9, 29.1, S. 662-664.

**Kral VA. 1982.** Depressive Pseudodemenz und senile Demenz vom Alzheimer-Typ. *Nervenarzt.* 53, 1982, S. 284-286.

- Kurtzhals P. 2004.** Engineering predictability and protraction in a basal insulin analogue: the pharmacology of insulin detemir. *Int J Obes.* 28(2), 2004, S. 23-28.
- Kuwahara H, Nishida Y, Yokota T. 2013.** Blood-brain barrier and Alzheimer's disease. *Brain Nerve.* 65(2), 2013, S. 145-151.
- LaBar KS, Gitelman DR, Parrish TB, Mesulam M. 1999.** Neuroanatomic overlap of working memory and spatial attention networks: a functional MRI comparison within subjects. *Neuroimage.* 10(6), 1999, S. 695.
- Logothetis NK, Pauls J, Augath M, Trinath T, Oeltermann A. 2001.** Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature.* 412(6843), 2001, S. 150-157.
- Matsui T, Ingelsson M, Fukumoto H, Ramasamy K, Kowa H, Frosch MP, Irizarry MC, Hyman BT. 2007.** Expression of APP pathway mRNAs and proteins in Alzheimer's disease. *Brain Res Epub.* 1161, 2007, S. 116-123.
- Memory Clinic. 2005.** CERAD-Plus: The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease. Basel (Universitätsspital) : s.n., 2005. German-Version.
- Merl V, Kern W, Peters A, Oltmanns K, Gais S, Born J, Fehm HL, Schultes B. 2004.** Differences between nighttime and daytime hypoglycaemia counterregulation in healthy humans. *Metabolism.* 53(7), 2004, S. 894-898.
- Mosconi L, Tsui WH, Herholz K, Pupi A, Drzezga A, Lucignani G, ... & de Leon, MJ. 2008.** Multicenter standardized 18F-FDG PET diagnosis of mild cognitive impairment, Alzheimer's disease, and other dementias. *J Nucl Med.* 49(3), 2008, S. 390-398.
- Nagel M, Oltmanns K, Lehnert H. 2009.** *BMBF – Projekt: Insulinmodulation kognitiver Leistungen bei Diabetes Typ II Patienten: Untersuchung mit N-Back während Insulin clamp bei Normoglykämie .* 2009.
- Nagel M, Willenborg B, Schweiger U, Lehnert H, Oltmanns KM. 2010.** Kognitive Störungen und Alzheimer-Demenz bei Diabetes Mellitus Typ 2. *Medwelt.* 61(2), 2010, S. 100-103.

- Newman SD, Just MA, Carpenter PA. 2002.** The synchronization of the human cortical working memory network. *Neuroimage*. 15, 2002, S. 810-822.
- Nitsch RM, Slack BE, Wurtman RJ, Growdon JH. 1992.** Release of Alzheimer amyloid precursor derivatives stimulated by activation of muscarinic acetylcholine receptors. *Science (NY)*. 258(5080), 1992, S. 304-307.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. 1990.** Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci*. 1990, S. 9868-9872.
- Ohara T, Doi Y, Ninomiya T, Hirakawa Y, Hata J, Iwaki T, Kanba S, Kiyohara Y. 2011.** Glucose tolerance status and risk of dementia in the community: The Hisayama Study. *Neurology*. 77, 2011, S. 1126-1134.
- Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, Pols HAP, Hofman A, Breteler MMB. 1999.** Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology*. 53(9), 1999, S. 1937-1942.
- Owen AM, McMillan KM, Laird AR, Bullmore E. 2005.** N-back Working Memory Paradigm: A Meta-Analysis of Normative Functional Neuroimaging Studies. *Human Brain Mapping*. 25, 2005, S. 46-59.
- Panten U, Rustenbeck I. 2005.** Pharmakologie des Glucosestoffwechsels - Antidiabetika. [Buchverf.] K Aktories, et al. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. München : Elsevier GmbH, 2005, Bd. 9, 27.1-5, S. 617-633.
- Pardridge WM, Eisenberg J, Yang J. 1985.** Human Blood-Brain Barrier Insulin Receptor. *J Neurochem*. 44(6), 1985, S. 1771-1778.
- Park CR, Seeley RJ, Craft S, Woods SC. 2000.** Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiol Behav*. 68(4), 2000, S. 509-514.
- Perlmutter LC, Hakami MK, Hodgson-Harrington C, Ginsberg J, Katz J, Singer DE, Nathan DM. 1984.** Decreased cognitive function in aging non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Med*. 77(6), 1984, S. 1043-1048.

- Plastino M, Fava A, Pirritano D, Cotronei P, Sacco N, Sperli T,...&, Bosco D. 2010.** Effects of insulinic therapy on cognitive impairments in patients with Alzheimer disease and Diabetes Mellitus type-2. *Journal of the Neurological Sciences*. 288(1-2), 2010, S. 112-116.
- Plum L, Schubert M, Brüning JC. 2005.** The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab*. 16(2), 2005, S. 59-65.
- Priller C, Bauer T, Mitteregger G, Krebs B, Kretzschmar HA, Herms J. 2006.** Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein. *J Neurosci*. 26(27), 2006, S. 7212-7221.
- Reger MA, Watson GS, Green PS, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA,...&, Craft S. 2008.** Intranasal insulin administration dose-dependently modulates verbal memory and plasma amyloid-beta in memory-impaired older adults. *J Alzheimers Dis*. 13(3), 2008, S. 323-331.
- Riederer P, Bartl J, Laux G, Grünblatt E. 2011.** Diabetes type II: a risk factor for depression-Parkinson-Alzheimer? *Neurotox Res*. 19(2), 2011, S. 253-265.
- Rossetti P, Porcellati F, Ricci NB, Candeloro P, Cioli P, Bolli GB, Fanelli CG. 2008.** Different Brain Responses to Hypoglycemia Induced by Equipotent Doses of the Long-Acting Insulin Analog Detemir and Human Regular Insulin in Humans. *Diabetes*. 57(3), 2008, S. 746-756.
- Rotte M, Barecke C, Pottag G, Klose S, Kanneberg E, Heinze HJ, Lehnert H. 2005.** Insulin affects the neuronal response in the medial temporal lobe in humans. *Neuroendocrinology*. 81(1), 2005, S. 49-55.
- Ryan CM, Williams TM. 1993.** Effects of insulin-dependent diabetes on learning and memory efficiency in adults. *J Clin Exp Neuropsychol*. 15(5), 1993, S. 685-700.
- Sabayan B, Foroughinia F, Mowla A, Borhanihaghighi A. 2008.** Role of Insulin Metabolism Disturbances in the Development of Alzheimer Disease: Mini Review. *Am J Alzheimers Dis other Demen*. 23(2), 2008, S. 192-199.

- Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N,...&, Younkin S. 1996.** Secreted amyloid  $\beta$ -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2, 1996, S. 864-870.
- Schubert M, Gautam D, Surjo D, Ueki K, Bandler S, Schubert D,...&, Brüning JC. 2004.** Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101(9), 2004, S. 3100-3105.
- Sheehan DV, Lecrubier Y, Janavs J, Knapp E, Weiller E, Sheehan M,...&, Sheehan KH. 1992.** MINI International Neuropsychiatric Interview. 1992. German Version 4.4.
- Siedentopf C. 2013.** fMRI easy. [online]. [Zitat vom 09.11.2013]. <http://www.fMRI-easy.de/start1.htm>
- Simard AR, Rivest S. 2006.** Neuroprotective properties of the innate immune system and bone marrow stem cells in Alzheimer's disease. *Mol. Psychiatry.* 11, 2006, S. 327-335.
- Sonntag WE, Ramsey M, Carter CS. 2005.** Growth hormone and insulin-like growth factor-1 and their influence on cognitive aging. *Ageing Res Rev.* 4(2), 2005, S. 195-212.
- Squire LR, Zola SM. 1996.** Structure and function of declarative and nondeclarative memory system. *Proc Natl Acad Sci.* 1996, S. 13515-13522.
- St George-Hyslop PH, Tanzi RE, Polinsky RJ, Haines JL, Nee L, Watkins PC,...&, Drachman D. 1987.** The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Sci NY.* 235(4791), 1987, S. 885-890.
- Steen E, Terry BM, Rivera EJ, Cannon JL, Neely TR, Tavares R,...&, de la Monte SM. 2005.** Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease - is type 3 diabetes? *J Alzheimers Dis.* 7(1), 2005, S. 63-80.
- Stöcker T, Shah NJ. 2007.** Grundlagen der MR-Bildgebung. [Buchverf.] Fink GR Schneider F. *Funktionelle MRT in Psychiatrie und Neurologie.* Heidelberg : Springer, 2007, S. 62-78.

**Strachan MW, Price JF, Frier BM. 2008.** Diabetes, cognitive impairment and dementia. *BMJ.* 336(7634), 2008, S. 6.

**Strachan MWJ. 2003.** Insulin and cognitive function. *Lancet.* 362(9392), 2003, S. 1253.

**Stranahan AM, Norman ED, Lee K, Cutler RG, Telljohann R, Egan JM, Mattson MP. 2008.** Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus.* 18(11), 2008, S. 1085-1088.

**Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD. 1993.** Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci.* 90(5), 1993, S. 1977-1981.

**Takeda S. 2012.** Pathological interaction between diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Nihon Shinkei Yakurigaku Zasshi.* 32(5-6), 2012, S. 239-244.

**Takeda S, Sato N, Uchio-Yamada K, Sawada K, Kuniedo T, Takeuchi D, Kurinami H, Shinohara M, Rakugi H, Morishita R. 2010.** Diabetes-accelerated memory dysfunction via cerebrovascular inflammation and A $\beta$  deposition in an Alzheimer mouse model with diabetes. *PNAS.* 107(15), 2010, S. 7036-7041.

**Tewes U, Wechsler D. 1991.** Hamburg-Wechsler-Intelligenztest für Erwachsene: HAWIE-R. s.l. : Huber, 1991.

**Tschritter O, Preissl H, Hennige AM, Stumvoll M, Porubska K, Frost R,...&, Fritsche A. 2006.** The cerebrocortical response to hyperinsulinemia is reduced in overweight humans: a magnetencephalographic study. *Natl Acad Sci.* 103(32), 2006, S. 12103-12108.

**Tsuchihashi K, Hikita N, Hase M, Agata J, Saitoh S, Nakata T, Ura N, Shimamoto K. 1999.** Role of hyperinsulinemia in atherosclerotic coronary arterial disease: studies of semiquantitative coronary angiography. *Intern Med.* 38(9), 1999, S. 691-697.

**Turner RC, Millns H, Neil HAW, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, Holman RR. 1998.** Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes Study. *BMJ.* 316(7134), 1998, S. 823-828.

- Unger JW, Livingston JN, Moss AM. 1991.** Insulin receptors in the central nervous system: Localization, Signalling Mechanisms and the Functional Aspects. *Neurobiology*. 36(5), 1991, S. 343.
- Vagelatos NT, Eslick GD. 2013.** Type 2 Diabetes as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: The Confounders, Interactions, and Neuropathology Associated With This Relationship. *Epidermiol Rev*. 35(1), 2013, S. 152-160.
- Valenciano AL, Corrochano S, de Pablo F, de la Villa P, de la Rosa EJ. 2006.** Proinsulin/insulin is synthesized locally and prevents caspase- and cathepsin-mediated cell death in the embryonic mouse retina. *J Neurochem*. 99(2), 2006, S. 524-536.
- Van Houten M, Posner BI. 1983.** Circumventricular Organs: Receptors and Mediators of Direct Peptide Hormone Action on Brain. *Adv Metab Disord*. 10, 1983, S. 269-289.
- Vignini A, Giulietti A, Nanetti L, Raffaelli F, Giusti L, Mazzanti L. 2013.** Alzheimers disease And Diabetes: New Insights and Unifying Therapies. *Curr Diabetes Rev*. 2013.
- Watts AS, Loskutova N, Burns JM, Johnson DK. 2013.** Metabolic Syndrome and Cognitive Decline in Early Alzheimer's Disease and Healthy Older Adults. *J Alzheimers Dis*. 2013.
- Weishaupt D, Köchli V, Marinczek B, Prueßmann KP, Fröhlich JM, Nanz D. 2006.** *Wie funktioniert MRI?* 5. Heidelberg : Springer, 2006.
- Weltärztebund. Version 2008.** *Deklaration von Helsinki - Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen*. Version 2008.
- Wetzke M, Behrens L. 2007.** Magnetresonanztomographie. *Basics - Bildgebende Verfahren*. München : Elsevier GmbH, 2007, Bd. 1, A, S. 12-13.
- Willenborg B, Nagel M, Jauch-Chara K, Erdmann C, Lehnert H, Oltmanns KM. 2011.** Increased neuronal activation and cognitive performance by detemir as compared to human insulin upon a working memory task-an fMRI study. *Pharmacopsychiatry*. 21(6), 2011, S. A120.

**Wishart HA, Saykin AJ, Rabin LA, Santulli RB, Flashman LA, Guerin SJ,...&, McAllister TW. 2006.** Increased brain activation during working memory in cognitively intact adults with the APOE epsilon4 allele. *Am J Psychiatry*. 163(9), 2006, S. 1603-1610.

**Wittchen HU, Zaudig M, Fydrich T. 1997.** SKID: Strukturiertes klinisches Interview für DSM-IV; Achse I und II; Handanweisung. s.l. : Hogrefe, Verlag für Psychologie, 1997.

**Zahn D, Petrak F, Uhl I, Juckel G, Neubauer H, Hägele AK, Wiltfang J, Herpertz S. 2012.** New pathways of increased cardiovascular risk in depression: A pilot study on the association of high-sensitivity C-reactive protein with pro-atherosclerotic markers in patients with depression. *J Affect Disord*. 2012.

**Zhang S, Chiang-Shan RL. 2012.** Functional connectivity mapping of the human precuneus by resting state fMRI. *Neuroimage*. 59(4), 2012, S. 3548-3562.

**Zhao WQ, Alkon DL. 2001.** Role of insulin and insulin receptor in learning and memory. *Mol Cell Endocrinol*. 177(1-2), 2001, S. 125-134.



## 7 Anhang

### 7.1 Einwilligungserklärung

Ich erkläre mich damit einverstanden, an der kernspintomografischen Untersuchung teilzunehmen, und dass mein Blutzucker mit Insulin und gleichzeitiger Gabe von Zucker auf Normalwerte eingestellt wird. Ich bin auch damit einverstanden, dass die im Rahmen der wissenschaftlichen Untersuchungen über mich erhobenen Daten sowie meine sonstigen mit der Untersuchung zusammenhängenden personenbezogenen Daten aufgezeichnet werden.

Ich wurde für mich ausreichend darüber aufgeklärt, dass gemäß dem Bundesdatenschutzgesetz (§§ 39-41 BDSG) gewährleistet ist, dass meine personenbezogenen Daten nicht an Dritte weitergereicht werden. Bei der Veröffentlichung in einer wissenschaftlichen Zeitschrift wird aus den Daten nicht hervorgehen, wer an der Untersuchung teilgenommen hat.

Tritt im Rahmen der Studiendurchführung ein Schaden auf, der den Studienteilnehmern durch das schuldhafte Verhalten eines Beschäftigten des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein (UKSH) zugefügt wurde, haftet die gesetzliche Haftpflicht des UKSH.

Ich wurde für mich ausreichend darüber aufgeklärt, dass ich jederzeit meine Teilnahme an der Studie widerrufen und meine Probe auf Wunsch vernichtet und meine Daten gelöscht werden können.

Ich wurde darüber informiert, dass ich für 12 Stunden nach dem Versuch nicht aktiv am Straßenverkehr teilnehmen oder schwere Maschinen betätigen darf.

Meine Daten und meine Probe sollen wie folgt geschützt werden (Bitte Ankreuzen):

- (1) Ich bin damit einverstanden, dass meine Daten und Proben für die Erforschung der kognitiven Leistungen bei Diabetes verwendet werden.
- (2) Ich bin damit einverstanden, dass Wissenschaftler der Universität Lübeck ggf. auch nach Jahren mit mir erneut Kontakt aufnehmen.
- (3) Ich bin damit einverstanden, dass meine Daten und Proben pseudonymisiert auch für andere Forscher zugänglich gemacht werden.

Das Original dieser Einverständniserklärung verbleibt bei den Studienunterlagen; eine Kopie wurde mir zusammen mit der Probandeninformation ausgehändigt. Ich habe die Probandeninformation gelesen und verstanden. Ich bin mit der geschilderten Vorgehensweise einverstanden und bestätige dies durch meine Unterschrift.

Nach- und Vorname:

Geburtsdatum:

Ort, Datum:

Unterschrift:

Name des aufklärenden Arztes:

Ort, Datum:

Unterschrift:

## **7.2 Consortium to Establish a Registry for Alzheimer´s Disease (CERAD)**

Die im CERAD enthaltene neuropsychologische Testbatterie überprüft die kognitiven Leistungen „Gedächtnis“, „Sprache“, „Praxis“ und „Orientierung“. Um jene Bereiche abzufragen, gliedert sich der CERAD wie folgt:

1. Verbale Flüssigkeit, Kategorie Tiere: In 1 Minute sollen die Probanden so viele Tiere aufsagen, wie ihnen einfällt. Die erreichte Anzahl wird gewertet.
2. Modifizierter Boston Naming Test: Den Probanden werden Strichzeichnungen von 15 Objekten vorgelegt, die sie benennen sollen. Nach dem Vorkommen in der Umwelt werden jeweils fünf häufige, mittel-häufige und seltene Objekte gezeigt. Für jede richtige Bezeichnung gibt es einen Wertepunkt.
3. Mini Mental State Examination (MMSE): Das Screening-Instrument MMSE erfasst kognitive Funktionsniveaus. Augenmerk liegt auf der Orientierung, der Konzentrationsfähigkeit und Merkfähigkeit, sowie auf der Sprache und der konstruktiven Praxis. Bei diesem Untertest werden maximal 30 Wertepunkte erlangt.
4. Wortliste Gedächtnis: Den Probanden werden nacheinander zehn schwarzgedruckte Wörter vorgelegt, die sie laut vorlesen sollen. Anschließend werden sie aufgefordert, jene frei zu reproduzieren. Die Aufgabe wird in zwei weiteren

Durchgängen mit abgewandelter Reihenfolge der Wörter wiederholt. Die maximale Punkteanzahl beträgt 30.

5. Konstruktive Praxis: Die Studienteilnehmer bekommen vier Strichzeichnungen wachsender Komplexität (Kreis, Rhombus, überschneidende Rechtecke, Würfel) vorgelegt, die sie abzeichnen sollen. Es können 11 Wertepunkte erreicht werden.
6. Wortliste abrufen: Die Probanden werden gebeten, die in Aufgabe 4 erlernten zehn Begriffe frei wiederzugeben (maximal 10 Punkte).
7. Wiedererkennen: In dieser Aufgabe sehen die Probanden 20 Begriffe, von denen sie die zehn gelernten Wörter von zehn Distraktoren differenzieren sollen.
8. Konstruktive Praxis abrufen: Hier werden die Probanden aufgefordert, alle Zeichnungen frei zu reproduzieren, die sie in den vorangegangenen Aufgaben zeichnen sollten (Aufgabe 5 und Zeichnung vom MMSE). Die maximal erreichbare Wertepunktezahl ist 12.
9. Trail Making Test A: Die Zahlen 1-25 sollen in der richtigen Reihenfolge verbunden werden. Die dafür benötigte Zeit sowie die Fehleranzahl werden notiert.
10. Trail Making Test B: Auf einem A4-Blatt sind die Buchstaben A-L und die Zahlen 1-13 zufällig verteilt. Die Probanden werden gebeten, sie in der Reihenfolge A-1-B-2-C... zu verbinden. Sowohl Fehleranzahl als auch verbrauchte Zeit werden notiert.
11. Phonematische Flüssigkeit (S-Wörter): Die Studienteilnehmer werden aufgefordert, eine Minute lang so viele S-Wörter wie möglich aufzuzählen. Gewertet wurde die Anzahl unterschiedlich genannter S-Wörter.

### 7.3 Wertetabellen

	<b>T2DM</b>
Alter (Jahre)	51,75 ( $\pm$ 1,53)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	28,06 ( $\pm$ 0,79)
Bildungsgrad (Jahre)	14,75 ( $\pm$ 0,76)

**Tabelle 6:** Soziodemografische Angaben  $\pm$  Standardabweichung der Versuchsgruppe.

	<b>T2DM</b>
Mini Mental Status Test (points)	29,25 ( $\pm$ 0,21)
Wortliste erinnern (Anzahl der erinnerten Worte)	23,50 ( $\pm$ 0,78)
Wortliste erneut erinnern (Anzahl der erinnerten Worte)	8,25 ( $\pm$ 0,32)
Zahlennachsprechen vorwärts (Anzahl korrekter Zahlen)	9,44 ( $\pm$ 0,64)
Zahlennachsprechen rückwärts (Anzahl korrekter Zahlen)	6,63 ( $\pm$ 0,60)
Trail Making Test A (Zeit in Sekunden)	33,69 ( $\pm$ 1,82)
Trail Making Test B (Zeit in Sekunden)	76,81 ( $\pm$ 5,77)
Konstruktive Praxis (Punkte)	10,69 ( $\pm$ 0,20)
Boston Naming Test (Anzahl korrekter Benennungen)	14,88 ( $\pm$ 0,09)

**Tabelle 7:** Ergebnisse der neuropsychologischen Testbatterie  $\pm$  Standardabweichung der Versuchsgruppe.

<b>Zeitraum</b>	<b>T2DM Detemir</b>	<b>T2DM Placebo</b>
-60	7,67	7,74
-40	7,39	7,81
-20	6,61	7,71
0	6,39	7,62
10	6,29	7,61
20	6,27	7,73
30	6,11	7,72

**Tabelle 8:** Wertetabelle zu Abbildung 2 (Blutglucose-Konzentrationen während Glucose-Clamp-Untersuchung für T2DM). Die Werte sind Mittelwerte, errechnet aus den gemessenen Blutzucker-Konzentrationen aller Probanden.

<b>Probanden</b>	<b>Detemir-1back</b>	<b>Detemir-2back</b>	<b>Placebo-1back</b>	<b>Placebo-2back</b>
1	1,75	3,25	3,75	3
2	1	2,75	0	1,5
3	0	1	0	0
4	0	0,5	0,75	2
5	0	0,25	0	3
6	0	0,25	0	3,25
7	0,75	1,75	1,25	3,75
8	1,5	4,5	0	0
9	0	0,5	0,25	0
10	0	1,5	0,25	1,75
11	0	0,25	0	1
12	0	4,5	0,25	3,5
13	0	2	0,25	1,5
14	0,25	2,7	0,62	5,5
15	0	0,5	0	2,75
16	0	0,25	0	0
<b>Mittelwert</b>	0,33	1,65	0,46	2,03

**Tabelle 9:** Wertetabelle zu Abbildung 8 (Fehlerraten der T2DM-Gruppe während der Glucose-Clamp-Untersuchung).

## 8 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich, Corinna Heinrich, dass die vorliegende Dissertation mit dem Titel: „Untersuchung der neuronalen Aktivierung und kognitiven Leistung während einer Arbeitsgedächtnisaufgabe bei der Gabe von Insulin Detemir im Vergleich zu Placebo bei Typ 2-Diabetikern. Eine fMRT-Studie.“, bis auf die Beratung durch meine akademischen Lehrer, nach Inhalt und Form meine eigene Arbeit ist.

Davon ausgenommen ist die statistische Auswertung der Ergebnisse, die Dr. med. Bastian Willenborg vornahm. Die Bedienung des MRT sowie die Bearbeitung der Bilddaten übernahm Dipl.-Ing. Christian Erdmann.

Weiterhin bestätige ich, keine anderen Hilfsmittel und Quellen, als die angegebenen, verwendet zu haben.

---

Datum

---

Unterschrift

## 9 Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei PD Dr. med. Matthias Nagel für die Überlassung des Themas und die stets freundliche und schnelle Hilfe bei Fragen oder Korrekturen.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Dr. med. Bastian Willenborg für die sehr gute Betreuung, das angenehme Arbeitsklima sowie vor allem für die statistische Auswertung der Daten und deren graphische Darstellung.

Weiterhin gilt mein Dank Dipl.-Ing. Christian Erdmann, der trotz der frühen Morgenstunden jeden Versuchstag wieder engagiert und gewissenhaft für uns das MRT bediente und bei der Auswertung der Bilddaten half.

Auch der Neuroradiologie möchte ich herzlich danken für die Bereitstellung der Räume und dem Team des Zentrallabors für die Bearbeitung unserer Blutproben.

Großen Dank schulde ich meiner Mit-Doktorandin Ann-Christin Rose für die wunderbare Zusammenarbeit. Auch Ina Riccius und Isabell Hoffmann, die den ersten Part der Versuchsreihe ermöglichten, möchte ich nicht vergessen einzubeziehen.

Nicht zuletzt möchte ich mich mit ganzem Herzen bei meiner Familie bedanken, die mich in jeder Lebenslage liebevoll unterstützten und ohne die mein Studium und diese Dissertation niemals möglich gewesen wären.

## 10 Lebenslauf

Corinna Heinrich

geboren am 19.02.1987 in Stendal



### Bildungsweg

seit Juni 2013	Weiterbildung Innere Medizin
Dezember 2012	Approbation als Ärztin
November 2012 Prüfung	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen
September 2008	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Oktober 2006	Studium der Humanmedizin an der Universität
1993-2006	Schulbildung, Abitur Winckelmann-Gymnasium Stendal

### Klinische Praktika

2012 PJ, 3. Tertial	Psychosomatik, Universitätsklinikum Lübeck
2012 PJ, 2. Tertial	Innere Medizin, Asklepios-Klinik Bad Oldesloe
2011 PJ, 1. Tertial	Chirurgie, Kantonsspital Winterthur/Schweiz
2011 Famulatur	Innere Medizin, San Martino Hospital, Genua/Italien
2010 Famulatur	Innere Medizin, kardiologische Praxis, Dr. Wollmann, Stendal
2010 Famulatur	HNO-Praxis, Dr. Weinfurtner, Ebersberg
2009 Famulatur	Psychiatrie, Universitätsklinikum Lübeck
2009 Famulatur	Gynäkologie, Universitätsklinikum Magdeburg

### Doktorarbeit

08-12/2009	Probandensuche
01-12/2010	Praktischer Teil
04/2011-06/2013	Anfertigung des theoretischen Teils