

Aus der Medizinischen Klinik 1

der Universität zu Lübeck

Direktor: Professor Dr. med. H. Lehnert

Plasma VEGF-Konzentration als Biomarker eines kompetenten *Brain-pulls*: seine Veränderungen nach Mahlzeit- und CRH-Stimulation bei normalgewichtigen und adipösen Probanden

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät –

vorgelegt von

Heli Laube

aus Frankfurt / Oder

Lübeck 2010

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Achim Peters

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Olaf Hiort

Tag der mündlichen Prüfung: 15.06.2011

Zum Druck genehmigt. Lübeck den, 15.06.2011

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

INHALTSVERZEICHNIS.....	I
TABELLENVERZEICHNIS, ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	II
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	III
1 EINLEITUNG.....	1
2 PROBANDEN UND METHODEN.....	10
2.1 Probanden.....	10
2.2 Studienprotokoll.....	10
2.3 Mahlzeitstimulation.....	11
2.4 CRH-Stimulation.....	11
2.5 Labormethoden.....	12
2.6 Statistik.....	12
3 ERGEBNISSE.....	14
3.1 Charakterisierung der Studienpopulation.....	14
3.2 Einfluss der Mahlzeitstimulation auf die Plasma VEGF-Konzentrationen.....	14
3.3 Einfluss der CRH-Stimulation auf die Plasma VEGF-Konzentrationen...	17
4 DISKUSSION.....	18
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	22
6 LITERATURVERZEICHNIS.....	23
7 DANKSAGUNG.....	33
8 LEBENSLAUF.....	34

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1:

Energie- und Nährstoffgehalt des Mittagessens (MW±SF).....12

Tabelle 2:

Charakterisierung der Studienpopulation stratifiziert nach dem BMI (MW±SF).... 15

Tabelle 3:

Multiple lineare Regressionsanalyse für VEGF- AUC_{Mahlzeitstimulation} als
abhängige Variable..... 17

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:

Lieferkette des menschlichen Gehirns.....2

Abbildung 2:

Allokation von Glukose zu Gehirn oder Körperperipherie.....4

Abbildung 3:

Neurone des lateralen Hypothalamus fordern Energie durch ingestives
Verhalten an.....7

Abbildung 4:

Präprandiale Plasma VEGF-Konzentrationen sowie Mahlzeit- und
CRH-induzierte VEGF-Konzentrationen bei normalgewichtigen
und adipösen Probanden (MW±SF).....6

Abbildung 5:

Plasma VEGF-Konzentrationen im Zeitverlauf (MW±SF).....18

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
ADH	Antidiuretisches Hormon
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	<i>area under curve</i>
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	<i>Body Mass Index</i>
CRH	<i>corticotropine-releasing hormone</i>
ECLIA	Elektro-Chemi-Lumineszenz-Immuno-Assay
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
GLUT	Glukosetransporter
kJ	Kilojoule
K2P	Tandem-Pore-Kalium-Kanäle
LH	Lateraler Hypothalamus
mRNA	<i>Messenger-Ribonukleinsäure</i>
MTA	Medizinisch technische Assistentin
PACAP	<i>pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide</i>
SNS	Sympathisches Nervensystem
VEGF	<i>vascular-endothelial-growth-factor</i>
VMH	Ventromedialer Hypothalamus
WHO	<i>World Health Organisation</i>

1 EINLEITUNG

Übergewicht ist ein wichtiges *Public-Health*-Problem, die Prävalenz ist weltweit ansteigend. Sollte sich die derzeitige Entwicklung fortsetzen, erwartet die WHO für das Jahr 2015 weltweit etwa 2,3 Millionen übergewichtige und mehr als 700 Millionen adipöse Erwachsene (WHO - World Health Organisation, 2006). Damit stellt Übergewicht einen wichtigen Risikofaktor für Gesundheit und Lebenserwartung der Bevölkerung dar. Mit Übergewicht sind weitere Komorbiditäten wie beispielsweise Hypertonie, Diabetes mellitus, chronische Inflammation, gastrointestinale Erkrankungen oder psychosoziale Komplikationen assoziiert (Hauner et al., 2006).

Die *“selfish brain theory”* liefert einen neuen Erklärungsansatz zur Ätiologie von Adipositas (Peters et al., 2004; Peters et al., 2007). Die Grundlagen der Theorie wurden 1998 – 2004 von Achim Peters erarbeitet und in experimentellen Studien bestätigt. Hiernach hat das Gehirn die oberste Priorität in der Verteilung von Energieressourcen. Sichtbar wird dies besonders in chronischen Prozessen der Abmagerung und bei akuten Belastungen des Glukosestoffwechsels wie akute Hypo- oder Hyerglykämie (Oltmanns et al., 2008).

Das Gehirn verbraucht $\frac{2}{3}$ der zirkulierenden Glukosekonzentration und ist damit wichtigstes Energiesubstrat. Um diesen hohen Bedarf an Glukose zu decken benutzt das Gehirn den *Brain-pull*-Mechanismus. Dieser kontrolliert den Energiefluss in der Lieferkette. Durch die Lieferkette gelangt Energie aus der Umgebung in den Körper und das Gehirn (**Abbildung 1**).

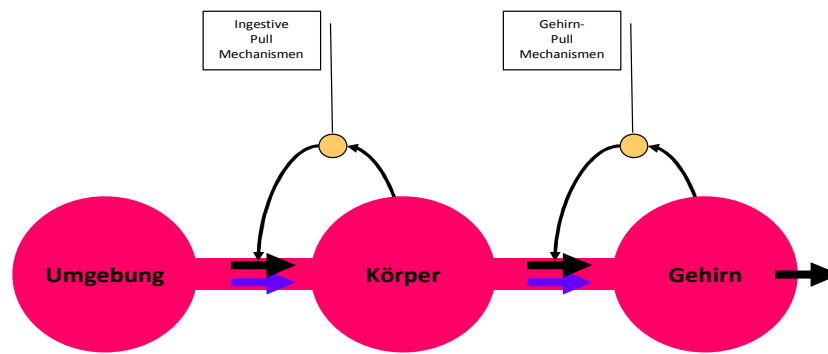


Abbildung 1: Lieferkette des menschlichen Gehirns. Energie aus der Umgebung wird in den Körper aufgenommen und von da gelangt ein großer Teil ins Gehirn. In den Lieferketten logistischer Systeme kann der Energiefluss prinzipiell durch den Anbieter (vorhergehender Schritt) oder den Empfänger (nachfolgender Schritt) bestimmt werden. Der Anteil des Flusses, der durch den Anbieter bestimmt wird, heißt „*Push-Komponente*“ (blauer Pfeil), der Anteil, der durch den Empfänger bestimmt wird, heißt „*Pull-Komponente*“ (schwarzer Pfeil) (Peters, 2009).

Dadurch werden Versorgungsmangel des Endverbrauchers, des Gehirns, oder ein Stau von Energie vor dem Gehirn verhindert. Das Gehirn selbst regelt seine eigene Energieversorgung durch den *Brain-pull-Mechanismus*. *Brain-pull* bedeutet hierbei die Fähigkeit des Gehirns, für sich selbst Energie aus dem Körper anzufordern. Hierfür nutzt es zwei unterschiedliche Mechanismen, den direkten und den allokativen *Brain-pull-Mechanismus*. Diese sollen im Folgenden ausführlicher beschrieben werden.

Der direkte *Brain-Pull-Mechanismus* läuft direkt auf Zell-zu-Zell-Ebene am Astrozyten ab. Durch seine Ausläufer und Endfüßchen bilden die Astrozyten Kontakte mit den Endothelzellen der Hirnkapillaren. Über die Endfüßchen werden Glukosemoleküle aus dem Blutkreislauf aufgenommen und den benachbarten Neuronen zur Verfügung gestellt. Andere Ausläufer und Endfüßchen der Astrozyten kontaktieren die neuronale Synapse. Der Glukosetransport aus dem

EINLEITUNG

Blut in die Astrozyten findet an Glukosetransporteinheiten, den GLUT1 statt. GLUT1 sind an der luminalen und abluminalen Seite der Blut-Hirn-Schranke (BHS), d.h. des Gefäßendothels, lokalisiert. Der Glukosefluss wird initiiert, wenn der intrazelluläre Anteil der ATP-Bindungskassette (Blodgett et al., 2007) des Glukosetransporters kein ATP mehr gebunden hat. Durch Konformationsänderung des Transporters öffnet sich der Transportkanal. Dieser molekulare Mechanismus beschreibt einen *Pull*-Mechanismus, denn der Energiefluss wird vom Astrozyten bestimmt. Es gibt in dem Übergang vom Blut zum Astrozyten auch eine *Push*-Komponente. Sind die Moleküle erst einmal offen, fließt umso mehr Glukose, je höher die Konzentration im Blut ist.

Die beschriebene *Pull*-Funktion des Astrozyten hängt auch von der Aktivität des benachbarten Neurons ab. Wird im synaptischen Spalt Glutamat freigesetzt, so ist dies ein hochenergiekonsumierender Prozess, und es entsteht ein hoher Energiebedarf im Neuron. Dieses Glutamatmolekül wird vom Astrozyten über das Endfüßchen aktiv aufgenommen und im weiteren Verlauf dem Neuron wieder zur Verfügung gestellt. Dieses Recycling von Glutamat ist ein Prozess, der selbst eine kleine Menge Energie im Astrozyten konsumiert. Ist also das benachbarte Neuron aktiv, korrespondiert sein hoher Energiebedarf mit einem kleineren Energiebedarf im Astrozyten. Das ATP im Astrozyten fällt daraufhin. Der ATP-abhängige astrozytäre *Pull*-Mechanismus öffnet die GLUT1-Poren für einen größeren Energienachschub aus dem Blut. Glukose wird in den Astrozyten aufgenommen und in Laktat konvertiert. Der Astrozyt deckt mit dem ATP, das durch die Glykolyse entstanden ist, seinen kleinen Energiebedarf für das Recycling von Glutamat. Die aufgenommene Glukose wird durch Glykolyse in Laktat und ATP umgewandelt und füllt den Energieverlust im Astrozyten wieder auf. Hierüber schließen sich die GLUT1-Moleküle an der BHS. Laktat wird dem benachbarten Neuron als Energiesubstrat vom Astrozyten zur Verfügung gestellt. Das Laktat deckt genau den hohen Energiebedarf für die neuronale Aktivität. Diesen *Energy-on-demand*-Prozess des Neurons klärten Luc Pellerin und Pierre Magistretti 1994 auf (Magistretti et al., 1999; Pellerin et al., 1994).

Ebenso existieren *Pull*-Mechanismen auf der systemischen Ebene zwischen Gehirn und Körper. Wie der Astrozyt fordert auch das Gehirn Energie aus den Speicherdepots des Körpers an. Diesen Vorgang bezeichnet man als Allokation, also Zuteilung von Energie zwischen Gehirn und Körper. Beim *Brain-pull* erfolgt die Anforderung über Energieallokation. Dabei spielt das Stresssystem eine große

EINLEITUNG

Rolle. Sympathische Aktivierung führt zur Suppression der Insulinsekretion aus den Betazellen. Dadurch sinkt die GLUT4-vermittelte insulinabhängige Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettgewebe (Kolb, 1991). Der GLUT1 ist insulinunabhängig und nimmt die verbleibende Glukosemenge über die BHS ins Gehirn auf. Auf diese Weise kann das Gehirn die Glukoseflüsse im Organismus umleiten und sich selbst zuteilen (**Abbildung 2**).

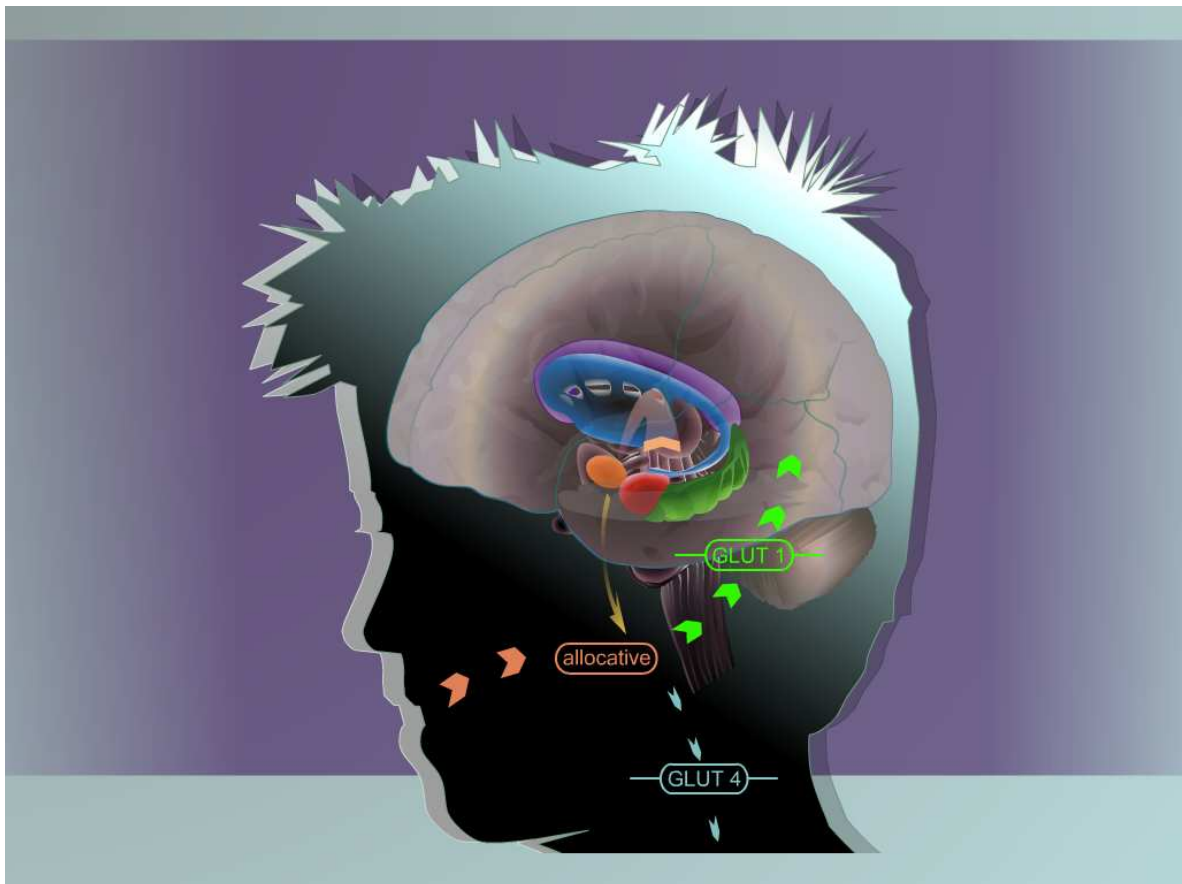


Abbildung 2: Allokation von Glukose zu Gehirn oder Körperperipherie. Die zerebralen Hemisphären generieren einen glutamatergen Befehl, um damit Energie aus dem Körper für das Gehirn anzufordern. Amygdala (rot) und Hippokampus (grün) integrieren die Signale aus den gesamten Hemisphären und senden sie zum ventromedialen Hypothalamus (orange). Dieser aktiviert das sympathische Nervensystem und das Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-System (gelber Pfeil). Sympathische Aktivierung führt zur Suppression der Insulinsekretion aus den Betazellen. Dadurch vermindert sich die GLUT4-vermittelte insulinabhängige Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettgewebe. Der GLUT1 ist insulinunabhängig und nimmt die verbleibende Glukosemenge über die BHS ins Gehirn auf. Auf diese Weise kann das Gehirn die Glukoseflüsse im Organismus umleiten und sich selbst zuteilen (Peters, 2009).

Im ventromedialen Hypothalamus (VMH) gibt es Neuronen, die sensitiv auf Veränderungen von intrazellulärem ATP reagieren. Wenn die zerebralen intrazellulären ATP-Konzentrationen fallen, dann depolarisieren diese Neuronen (Miki et al., 2001) und aktivieren über glutamaterge Mechanismen das sympathoadrenale System (Tong et al., 2007). Die sympathischen Efferenzen projizieren zu den Betazellen der Langerhans-Inseln und inhibieren die Insulinsekretion komplett innerhalb von Minuten (Ahren, 2000; Mulder et al., 2005; Woods, 1974). VMH-getriggerte sympathische Efferenzen projizieren ebenfalls zur Muskulatur und zum Fettgewebe. Dort inhibieren sie die insulinabhängige Wirkung des GLUT4. Die an Fettzellen freigesetzten Katecholamine interferieren auf molekularer Ebene mit dem „*trafficking*“ von GLUT4-Molekülen, d.h. blockieren die Bewegungen von GLUT4 vom Zellinneren zur Zellmembran (Mulder et al., 2005). Auf diese Weise sind die VMH-Neuronen in der Lage, den Abfluss von Glukose aus dem Blut in die Speicher (Muskulatur und Fett) zu limitieren. Hierzu zeigten Hitze et al., dass das Gehirn durch zerebrale Insulinsuppression Energie vom Körper für das Gehirn anfordert. Zum ersten Mal zeigten sie *Brain-Pull* durch zerebrale Insulinsuppression beim Menschen (Hitze et al., 2010). Diese VMH-getriggerten Mechanismen können als *Gehirn-Pull*-Mechanismen bezeichnet werden, da sie bedarfsgerecht die Glukoseverfügbarkeit für das Gehirn gewährleisten.

Weiter distal der Lieferkette befinden sich *Body-Pull*-Mechanismen, die für die Aufnahme von Energie aus der Umwelt, d.h. für ingestives Verhalten verantwortlich sind (**Abbildung 3**). Erst wenn die Blutglukosekonzentration des Körpers sinkt, kommt es zur Initiierung der Nahrungsaufnahme (*ingestive-pull* = Energieaufnahme aus der unmittelbaren Umgebung) oder des Suchverhaltens (*foraging-pull* = Nahrungssuche in fernerer Umgebung).

Im lateralen Hypothalamus sind Neuronen lokalisiert, die Orexin / Hypokretin freisetzen und damit Nahrungsaufnahme, Wachheit und belohnungssuchendes Verhalten in Gang setzen. Diese hypothalamischen Orexin-Neuronen sind an ihrer Zelloberfläche mit Glukoserezeptoren ausgestattet. Die Glukoserezeptoren binden extrazelluläre Glukose, d.h. Glukose, die sich im Zellzwischenraum zwischen Astrozyten und Neuronen innerhalb des Gehirns befindet. Daher liegt die

EINLEITUNG

Glukosekonzentration des zerebralen Extrazellulärraums um den Faktor 3 – 10 niedriger als die Blutglukosekonzentration.

Die Neuronen des lateralen Hypothalamus (LH) messen die Konzentrationen von extrazellulärer Glukose (Burdakov et al., 2006). Sie reagieren hingegen nicht auf Änderungen der extrazellulären Laktatkonzentrationen (Gonzalez et al., 2008). Fällt die extrazelluläre Glukosekonzentration ab, so werden so genannte Tandem-Pore-Kalium-Kanäle (K2P) auf den Orexin-Neuronen elektrisch aktiv, und die Zellen depolarisieren. Über das hypothalamische neuronale Netzwerk reagieren diese Orexin-Neuronen auch auf Veränderungen des Serum-Leptins, des Hormons aus den Adipozyten, welches den Energiegehalt im Fettgewebe reflektiert. Wenn nun die Energiereserven im Blut und in den peripheren Energiespeichern reduziert werden, kommen ingestive *Body-Pull*-Mechanismen in Gang, die die Energie im Körper (Blut, Leber, Muskel, Fett) wieder auffüllen. Innerhalb der Lieferkette sind die verschiedenen *Pull*-Mechanismen fein aufeinander abgestimmt.

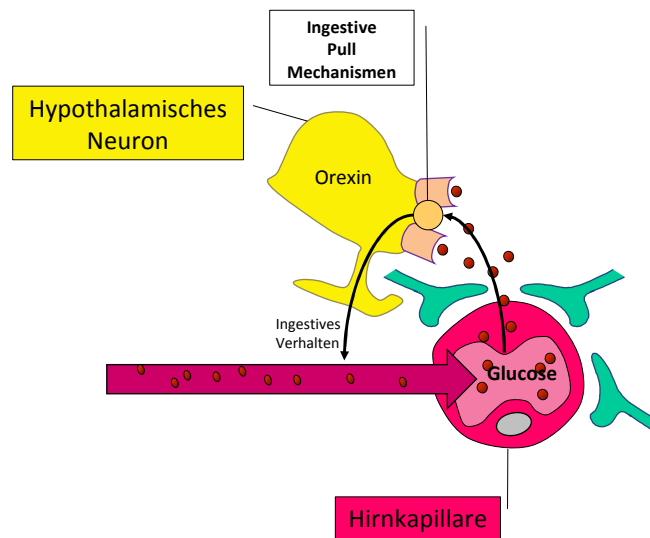


Abbildung 3: Neuronen des lateralen Hypothalamus fordern Energie durch ingestives Verhalten an. Orexin-Neuronen des lateralen Hypothalamus sind mit Glukoserezeptoren an ihrer Zelloberfläche ausgestattet, welche extrazelluläre Glukose messen. Beim Abfall der extrazellulären zerebralen Glukose depolarisieren die Orexin—Neurone und steigern Appetit und Nahrungsaufnahme (Peters, 2009).

Es konnte kürzlich gezeigt werden, dass ein inkompetenter *Brain-pull*-Mechanismus bei Nahrungsüberfluss zu einem Stau in der Lieferkette führt. Dieser Lieferkettenstau verursacht nachfolgend ein gemeinsames Auftreten von Adipositas und Typ 2 Diabetes mellitus (Peters et al., 2009). Sind die *Brain-pull*-Mechanismen durch Fehlprogrammierung inkompetent, kommt es zum Versorgungsengpass. Ein derartiger Engpass kann metabolisch kompensiert werden, indem die Nahrungsaufnahme gesteigert wird. Dies führt zwar zu einer ausreichenden zerebralen Glukoseversorgung, ebenfalls kommt es jedoch zu einem Stau in der Lieferkette. Es akkumuliert die Energie im Fettgewebe – und Adipositas entsteht. Ebenso akkumuliert die Glukose im Blut – und Diabetes mellitus Typ 2 entsteht (Peters et al., 2009; Voigt, 2005). In gleicher Weise konnte gezeigt werden, dass ein kompetenter *Brain-pull*-Mechanismus bei Nahrungsmangel unabdingbar für die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase ist (Peters et al., 2009).

EINLEITUNG

Ein wichtiger Ansatzpunkt in der Adipositasforschung bildet deshalb die Diagnose eines kompetenten *Brain-pulls*. Frühere Studien geben Hinweise darauf, dass der *vascular-endothelial-growth-factor* (VEGF) als Biomarker eines kompetenten *Brain-pulls* verwendet werden könnte (Dantz et al., 2002; Kristensen et al., 2009; Mani et al., 2003; Merl et al., 2005; Wang et al., 2003). VEGF wurde erstmals 1989 isoliert und charakterisiert (Hahn et al., 1998; Satoh et al., 1999; Schwartz et al., 2000). Es ist strukturell ein antiparalleles heparin-bindendes homodimeres Glykoprotein und durch eine Disulfidbrücke kovalent zwischen Cys-51 und Cys-60 gebunden (Jansen et al., 1997). VEGF ist ein kationisches, hitzestabiles, relativ säurestabiles Protein mit einem Molekulargewicht von 23 (reduzierte Bedingungen) – 45 kDA (nicht reduzierte Bedingungen). Die hauptsächlich wirksame Isoform des VEGF ist das VEGF 165 (Chan et al., 1991). Beim Menschen wurden bislang fünf Isoformen identifiziert, die durch alternatives Splicen der mRNA aus dem selben Gen entstehen (Fruehwald-Schultes et al., 2000; Satoh et al., 1999). Die Unterschiede zwischen den Isoformen liegen in der Größe der Proteine und ihrer jeweiligen biologischen Eigenschaften. Neben VEGF stellen Laktat und Insulin ebenfalls mögliche Biomarker eines kompetenten *Brain-pulls* dar (van Dyken et al., 2010).

Es wurde gezeigt, dass VEGF die GLUT1-Expression steigern kann wie auch seine Translokation aus dem Zytosol an die Plasmamembranoberfläche (Sone et al., 2000). Weiterhin induziert VEGF die endotheliale Fenestrierung und erhöht die Permeabilität der BHS (Wang et al., 1996). Erstmals wurde VEGF in Hypophysenfollikularzellen identifiziert; es liegt insbesondere im Hypothalamus und der Hypophyse vor (Ferrara et al., 1992).

In einer populationsbasierten Querschnittstudie konnte gezeigt werden, dass Typ 2 Diabetiker mit höheren Plasma VEGF-Konzentrationen eine 17% niedrigere Kohlenhydrataufnahme und eine 4,8% niedrigere Körpermasse hatten als Probanden mit niedrigeren VEGF-Konzentrationen (Hubold et al., 2006). Unter Berücksichtigung der Funktion von VEGF am GLUT1-vermittelten Glukosetransport weisen diese Ergebnisse darauf hin, dass hohe VEGF-Konzentrationen die Fähigkeit des Gehirns anzeigen, Glukose aus der Körperperipherie anzufordern. Daher könnte eine hohe VEGF-Konzentration als ein möglicher Biomarker für einen kompetenten *Brain-pull*-Mechanismus verwendet werden.

EINLEITUNG

Ziel dieser Studie war zu untersuchen, ob die Plasma VEGF-Konzentration als Biomarker für einen kompetenten *brain-pull* verwendet werden kann. Dabei wurden VEGF-Konzentrationen nach einer Mahlzeitstimulation sowie einer CRH-Injektion bei 15 gesunden normalgewichtigen und 10 adipösen Probanden verglichen.

2 PROBANDEN UND METHODEN

2.1 Probanden

9 kaukasische Frauen und 16 kaukasische Männer habe ich durch Aushänge rekrutiert. Frauen und Männern zeigten keinen Unterschied in den präprandialen Plasma VEGF-Konzentrationen ($25,1 \pm 4,3$ vs. $26,2 \pm 9,1$ ng/L; $p=0,822$), daher habe ich sie in einer Gruppe analysiert. Die Teilnehmer erfüllten folgende Einschlusskriterien: keine Vorerkrankungen, keine chronischen oder akuten Krankheiten, unauffällige körperliche Untersuchungen, aktuell keine Medikamenteneinnahme jeglicher Art, kein Nikotin-, Alkohol- oder Drogenabusus. Leistungssport, Schwangerschaft oder Stillperiode waren weitere Ausschlusskriterien. Frauen wurden zwischen dem dritten und fünften Tag ihres Menstruationszyklus untersucht.

Die Studie wurde durch die örtliche Ethikkommission der Universität zu Lübeck genehmigt (Ethikantrag-Nr. 03-037). Alle Probanden haben vor Teilnahme und nach einer ausführlichen Aufklärung eine schriftliche Einwilligungserklärung unterschrieben.

2.2 Studienprotokoll

Die Studie begann um 11.30 Uhr nach einer Nüchternperiode von 2½ Stunden. Das Gewicht wurde durch eine elektronische Waage auf 0,5 kg genau bestimmt. Die Körpergröße bestimmte ich durch ein Stadiometer auf 0,5 cm genau. Den BMI (*Body Mass Index*) berechnete ich als Körpermasse (kg) / (Körpergröße (m))². Entsprechend der WHO-Definition (WHO, 1995) klassifizierte ich die Probanden als normalgewichtig (BMI <25 kg/m²; n=15) oder adipös (BMI ≥30 kg/m²; n=10). Ich entnahm eine Blutprobe vor Beginn der Mahlzeitstimulation zur Beurteilung der basalen Konzentrationen von Glukose (S-Monovette®, 2,6 ml LH), Insulin und Kortisol (S-Monovette®, 2,6 ml Serum), VEGF und ACTH (S-Monovette®, 2,6 ml K3E).

2.3 Mahlzeitstimulation

Ein in einer Unterarmvene platzierter Katheter diente der regelmäßigen Blutabnahme. Nach Entnahme der präprandialen Blutprobe (12:00 Uhr) bot ich den Probanden eine standardisierte Mahlzeit an. Die Mahlzeit bestand aus 200g Kartoffeln, 200g gemischtem Gemüse, 5g Butter, 100g Hähnchenbrust, 5g Margarine, 100ml Bratensoße, 100g Tomaten und 25ml Joghurtdressing. Die aufgenommene Mahlzeit wurde gewogen und in Hinblick auf Energie- und Makronährstoffgehalt durch eine Diätassistentin analysiert (**Tabelle 1**). Im Energie- und Nährstoffgehalt gab es keinen Unterschied zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden. Postprandial entnahm ich nach 30 und 60 Minuten Blutproben. Diese zwei Messungen mittelte ich für weitere Analysen. Während der Untersuchung war es den Probanden erlaubt, Wasser zu trinken, Nahrungsaufnahme oder andere Getränke waren verboten.

Tabelle 1: Energie- und Nährstoffgehalt des Mittagessens (MW±SF).

	Normalgewicht	Adipositas	p
Energie (kJ)	1888,0±71,4	1867,5±84,2	>0,05
Kohlenhydrate (g)	44,9±1,0	40,2±3,7	>0,05
Eiweiß (g)	35,9±2,6	38,0±1,1	>0,05
Fett (g)	13,9±0,5	14,5±0,2	>0,05

Abkürzungen: MW = Mittelwert; SF = Standardfehler; T-Test für unabhängige Stichproben.

2.4 CRH-Stimulation

Um 16:00 Uhr wurde der CRH-Stimulationstest durchgeführt. Nach Entnahme einer basalen Blutprobe applizierte ich 1µg/ kg Körpergewicht des *corticotropine-releasing hormone* (CRH Ferring, FERRING GmbH, Kiel, Deutschland) intravenös. Gleichzeitig ließ ich eine NaCl-Infusion kontinuierlich laufen (500 ml NaCl-Infusion, Berlin-Chemie AG, Berlin, Deutschland). Blutproben entnahm ich nachfolgend um 16:30 Uhr, 17:00 Uhr, 18:00 Uhr und 20:00 Uhr.

2.5 Labormethoden

Alle Blutproben zentrifugierte ich sofort nach Entnahme, pipettierte den Überstand ab und frohr ihn anschließend bei -60 °C bis zur Bestimmung ein. Die endgültige Bestimmung der nachfolgend beschriebenen Laborparameter erfolgte durch die MTA's der Medizinischen Fakultät der Universität zu Lübeck. Plasma VEGF₁₆₅ Konzentrationen wurden in Doppelbestimmung durch einen *sandwich-type enzyme-linked* Immunoassay (Quantikine, R&D-Systems, Minneapolis, MN, USA) gemessen. Die Intraassay- / Interassay-Variationskoeffizienten lagen bei <5,0% bzw. <7,5%, die niedrigste Nachweisgrenze lag bei 9,0 pg/ml. Die Bestimmung von Plasma ACTH erfolgte quantitativ durch den ACTH Immulite im „berthold“ LB 952 T/ 16 (Firma: Laboratorium Prof. Dr. Berthold, Serien-Nr.: 3090). Der ACTH Immulite arbeitet als sequenzieller immunometrischer Assay, die analytische Sensitivität des ACTH Immulite lag bei 9 pg/ml. Die Intraassay- / Interassay-Variationskoeffizienten betragen 6,7–9,5% bzw. 6,1–10,0%. Serum Kortisol wurde quantitativ im Elektro-Chemi-Lumineszenz-Immuno-Assay „ECLIA“ im Immunoassay-Analyseautomaten Elecsys 2010 bestimmt (Firma: Roche Diagnostics GmbH, produziert durch Hitachi High Technologies Corp., Japan, Serien-Nr. 0947-48). Die Sensitivität lag bei <1,0 nmol/L (<0,036 µg/ dl), die funktionale Sensitivität bei <8,0 nmol/L (<0,3 µg/dl), der Messbereich lag zwischen 1,0 – 1750,0 nmol/L (0,036 – 63,0 µg/dl), der Intraassay Variationskoeffizient lag bei <1,3% und der Interassay Variationskoeffizient bei <1,5%. Plasma Glukose wurde durch die Glukose-Oxidase-Methode (Glukose Analyser, Beckmann Coulter, Inc. Instruments GmbH, München) gemessen (Intraassay-/ Interassay-Variationskoeffizient <1,8% bzw. 2,6 %). Insulinserumkonzentrationen wurden durch einen ELISA bestimmt (DAKO Ltd, Cambridgeshire, UK; Intraassay-Variationskoeffizient <7,5%; Interassay-Variationskoeffizient <8,9%).

2.6 Statistik

Für die statistische Datenanalyse verwendete ich das Softwareprogramm SPSS (SPSS 12.0, Inc., Chicago, USA). Die deskriptive Statistik ist als Mittelwert±Standardfehler (MW±SF) angegeben. Alle Parameter erfüllten die Kriterien einer Normalverteilung (ermittelt mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Test).

PROBANDEN UND METHODEN

Den Gruppenvergleich normalgewichtiger und adipöser Probanden analysierte ich mittels T-Test für unabhängige Variablen. Messungen von Plasma VEGF-Konzentrationen im Intragruppenvergleich ermittelte ich durch den paarweisen T-Test. Ich verwendete multiple lineare Regressionsanalysen, um die Varianz der Plasma VEGF-Konzentration zu erklären. Als unabhängige Variablen wurden die Konzentrationen von Glukose, Insulin, ACTH und Kortisol in diese Analyse eingefügt. *Area under the concentration vs. time curves* (AUC) berechnete ich für die Konzentrationen von VEGF, Glukose, Insulin, ACTH und Kortisol mittels *NCSS Statistical Analysis and Graphics Program* (Trial Version 2007; Utah, USA). Hierfür wendete das Programm die Trapezformel an.

Varianzanalysen (ANOVA) für wiederholte Messungen mit „Zeit“ als „Intrasubjektfaktor“ und BMI-Klassifikation (Gruppe) als „Intersubjektfaktor“ wurden für den mahlzeitenstimulierten Anstieg der VEGF-Konzentration (12:00 – 13:00) und den CRH-stimulierten Anstieg der VEGF-Konzentration (16:00 – 20:00) durchgeführt.

Ein p-Wert von 0,05 (zweiseitig) wurde als signifikant angenommen.

3 ERGEBNISSE

3.1 Charakterisierung der Studienpopulation

Tabelle 2 zeigt die Charakterisierung der Studienpopulation. Im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden hatten adipöse Probanden einen höheren BMI, höhere Serum Insulin- sowie höhere ACTH-Konzentrationen. Hingegen unterschieden sich Alter, Glukose- und Kortisolspiegel nicht zwischen den Gruppen. Die präprandialen VEGF-Konzentrationen unterschieden sich ebenfalls nicht zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden.

Tabelle 2: Charakterisierung der Studienpopulation stratifiziert nach dem BMI (MW±SF).

	Normalgewichtige Probanden (n=15)	Adipöse Probanden (n=10)
Alter (Jahre)	30,5±1,4	35,4±2,4
BMI (kg/m ²)	23,2±0,8	37,0±1,8***
VEGF (ng/L)	27,6±3,1	23,1±2,3
Glukose (mmol/L)	4,7±1,0	5,1±0,2
Insulin (pmol/L)	38,3±5,9	134,0±30,0**
ACTH (pmol/L)	4,4±0,4	14,5±5,8*
Kortisol (µg/ml)	12,0±1,3	11,2±1,8

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001: Unterschied zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden; T-Test für unabhängige Variablen; *Abkürzungen:*

ACTH = adrenokortikotropes Hormon, BMI = *Body Mass Index*, VEGF = *vascular endothelial growth factor*.

3.2 Einfluss der Mahlzeitstimulation auf die Plasma VEGF-Konzentrationen

Im Vergleich zu den präprandialen Messwerten erhöhte die Mahlzeitstimulation die Plasma VEGF-Konzentrationen um 42,0% bei normalgewichtigen (von 27,6±3,1 auf 39,2±4,0 ng/L, p<0,05), aber nicht bei adipösen Probanden (**Abbildung 4**).

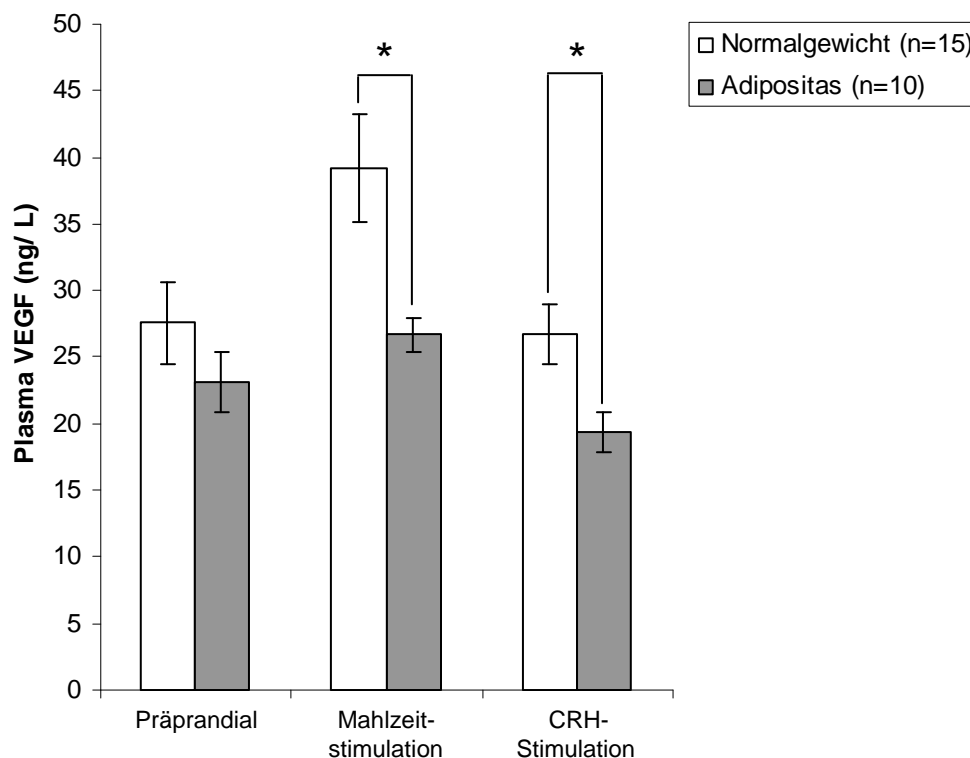


Abbildung 4: Präprandiale Plasma VEGF-Konzentrationen sowie Mahlzeit- und CRH-stimulierte VEGF-Konzentrationen bei normalgewichtigen und adipösen Probanden (MW \pm SF).

* $p < 0,05$: Unterschied zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden; T-Test für unabhängige Variablen; *Abkürzungen*: CRH = *corticotropine-releasing hormone*, VEGF = *vascular endothelial growth factor*.

Im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden hatten adipöse Probanden niedrigere Plasma VEGF-Konzentrationen nach der Mahlzeitstimulation (**Abbildung 4, 5**) und eine niedrigere VEGF-AUC_{Mahlzeitstimulation} ($31,7 \pm 3,0$ vs. $24,4 \pm 1,3 \text{ pg/ml} \cdot 60 \text{ min}^{-1}$; $p < 0,05$). Der mahlzeitenstimulierte Anstieg der VEGF Konzentration zeigte in der ANOVA keinen Gruppen-Unterschied (Interaktion Zeit*Gruppe: $F=1,7$, n.s.; Haupteffekt Gruppe: $F=5,8$, $p < 0,05$ und Haupteffekt Zeit: $F=5,2$, $p < 0,05$; ANOVA for repeated measures).

ERGEBNISSE

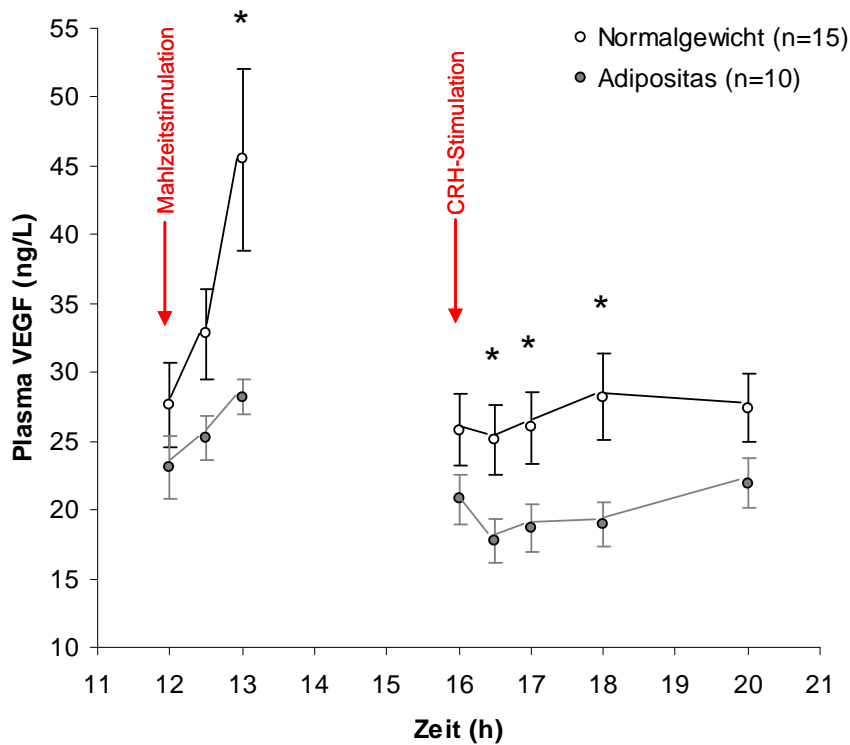


Abbildung 5: Plasma VEGF-Konzentrationen im Zeitverlauf (MW \pm SF).

* $p < 0,05$: Unterschied zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden; T-Test für unabhängige Variablen; *Abkürzungen*: CRH = *corticotropine-releasing hormone*, VEGF = *vascular endothelial growth factor*.

Um den Effekt anderer Faktoren auf die VEGF-Konzentration zu untersuchen, verwendete ich eine multiple lineare Regressionsanalyse (**Tabelle 3**). Die Varianz der $VEGF-AUC_{Mahlzeitstimulation}$ konnte weder durch den BMI, noch durch die $Insulin-AUC_{Mahlzeitstimulation}$, $Glukose-AUC_{Mahlzeitstimulation}$, $ACTH-AUC_{Mahlzeitstimulation}$, $Kortisol-AUC_{Mahlzeitstimulation}$ oder die Aufnahme von Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten erklärt werden.

Tabelle 3: Multiple lineare Regressionsanalyse für VEGF- $AUC_{\text{Mahlzeitstimulation}}$ als abhängige Variable.

	B	SF	p
Insulin- $AUC_{\text{Mahlzeitstimulation}}$	0,001	0,004	0,635
Glukose- $AUC_{\text{Mahlzeitstimulation}}$	0,290	0,854	0,739
ACTH- $AUC_{\text{Mahlzeitstimulation}}$	0,100	0,180	0,585
Kortisol- $AUC_{\text{Mahlzeitstimulation}}$	-0,006	0,007	0,355
BMI (kg/m^2)	-0,283	0,326	0,398
Eiweiß (g)	0,127	0,442	0,778
Fett (g)	-0,485	2,217	0,830
Kohlenhydrate (g)	0,470	0,429	0,290

Abkürzungen: B = unstandardisierter Koeffizient, SF = Standardfehler für B.

3.3 Einfluss der CRH-Stimulation auf die Plasma VEGF-Konzentrationen

Die VEGF-Konzentrationen zeigten keinen Anstieg nach CRH-Stimulation, weder bei normalgewichtigen noch bei adipösen Probanden (**Abbildung 4**). Adipöse Probanden hatten im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden niedrigere Plasma VEGF-Konzentrationen nach CRH-Stimulation (**Abbildung 4**). Plasma VEGF-Konzentrationen zeigten in drei von vier Messungen nach CRH-Stimulation niedrigere Konzentrationen (bei adipösen vs. normalgewichtigen Probanden, **Abbildung 5**).

Der CRH-stimulierte Anstieg der VEGF-Konzentration zeigte in der ANOVA keinen Unterschied zwischen adipösen und normalgewichtigen Probanden (Interaktion Zeit*Gruppe: $F=0,7$, n.s.; Haupteffekt Gruppe: $F=5,1$, $p<0,05$ und Haupteffekt Zeit: $F=5,2$, $p<0,05$; ANOVA for repeated measures).

4 DISKUSSION

Um die Kompetenz des *Brain-pulls* experimentell beurteilen zu können, untersuchte ich in meiner Dissertation zwei unterschiedliche Stimuli von VEGF, 1. die Aufnahme einer Mahlzeit und 2. CRH-Injektion (*corticotropine-releasing hormone*).

Die erste Hypothese war, dass Nahrungsaufnahme die VEGF-Konzentration stimuliert. Frühere Studien konnten bereits zeigen, dass Nahrungsaufnahme sowohl die Kortisol- (Benedict et al., 2005; Follenius et al., 1982) als auch die Katecholamin-Konzentrationen steigert (Knoll et al., 1984). Weiterhin erhöht Nahrungsaufnahme die SNS-Aktivität (Landsberg, 2006; Welle, 1995). Ein Anstieg der Plasma VEGF-Konzentration nach Energieaufnahme könnte analog zur gesteigerten SNS-Aktivität betrachtet werden. Während eine hohe SNS-Aktivität die Insulinsekretion der pankreatischen Betazellen (McDermott et al., 1993) und dadurch die insulinabhängige GLUT4 vermittelte Glukoseaufnahme in periphere Gewebe hemmt (Kolb, 1991), erleichtert VEGF den Glukosetransport über die BHS durch den insulinunabhängigen GLUT1. Ferner kann ein mahlzeitenabhängiger Anstieg an Insulin die VEGF-Konzentration ebenfalls erhöhen. Dies geschieht über Induktion der Expression der *hypoxia-inducible factor-1 alpha* Untereinheit (Doronzo et al., 2006; Feldser et al., 1999; Zelzer et al., 1998), in dessen Folge die VEGF-mRNA-Expression aktiviert wird.

Die zweite Hypothese war, dass CRH VEGF stimuliert. Zellen des paraventriculären Hypothalamus synthetisieren VEGF. Dieses kann gemeinsam mit anderen Neuropeptiden wie CRH, Vasopressin und PACAP (*pituitary adenylate cyclase activating peptide*) ausgeschüttet werden (Hannibal et al., 1999; Hannibal et al., 1995). Es gibt Hinweise darauf, dass PACAP wie ein *releasing-hormone* die VEGF-Sekretion stimuliert (Gloddek et al., 1999). Sowohl CRH als auch PACAP stimulieren die ACTH-Sekretion (adrenokortikotropes Hormon) (Chiodera et al., 1996; Chrousos et al., 1985). Es konnte bereits gezeigt werden, dass ACTH einen schnellen Anstieg der VEGF-Expression in Zellkulturen induziert (Gaillard et al., 2000). Darüber hinaus reguliert ACTH direkt die VEGF-Expression und -Sekretion in fetalen Nebennierenrindenzellen (Shifren et al., 1998). Dagegen hemmen Glukokortikoide die Freisetzung von VEGF aus den hypophysären Follikularzellen (Gloddek et al., 1999) ebenso wie die Freisetzung von ACTH aus basophilen Hypophysenzellen.

DISKUSSION

Die Ergebnisse aus der hier vorliegenden Arbeit zeigten höhere mahlzeitenstimulierte VEGF-Konzentrationen bei normalgewichtigen im Vergleich zu adipösen Probanden. Berücksichtigt man die bereits in früheren Studien gezeigten Funktionen von VEGF hinsichtlich der Regulation des GLUT1-abhängigen Glukosetransports über die BHS sowie der Reaktion auf eine Hypoglykämie (Dantz et al., 2002; Kristensen et al., 2009; Mani et al., 2003; Pekala et al., 1990; Wang et al., 1996), so deuten die beobachteten höheren Plasma VEGF-Konzentrationen bei normalgewichtigen vs. adipösen Probanden (**Abbildungen 4, 5**) auf eine höhere Anforderung von Glukose bei normalgewichtigen Probanden hin. Deshalb könnte eine höhere Plasma VEGF-Konzentration als ein Biomarker für einen kompetenten *Brain-pull* betrachtet werden. Damit übereinstimmend zeigten Hubold et al. (2006) eine negative Korrelation zwischen Plasma VEGF-Konzentrationen und Kohlenhydrataufnahme sowie Körpermasse (Hubold et al., 2006). Eine effiziente Anforderung an Glukose, wie durch höhere Plasma VEGF-Konzentrationen angezeigt, könnte daher mit einer niedrigeren Energieaufnahme und mit niedrigerem Körpergewicht assoziiert sein. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen führt eine längere Verabreichung von VEGF bei Ratten zu Gewichtsverlust (Proescholdt et al., 2002).

Unter den Bedingungen, unter denen ich die Plasma VEGF-Konzentrationen untersucht habe, scheint die VEGF-Konzentration nach der Mahlzeitstimulation der beste Biomarker zur Diagnose eines kompetenten *Brain-pulls* zu sein. Präprandiale Plasma VEGF-Konzentrationen unterschieden sich nicht zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden (**Tabelle 2**). Im Unterschied hierzu hatten normalgewichtige vs. adipöse Probanden höhere Mahlzeit- und CRH-stimulierte Plasma VEGF-Konzentrationen (**Abbildungen 4, 5**). Darüber hinaus war der Anstieg von VEGF nach Mahlzeitstimulation bei adipösen im Vergleich zu normalgewichtigen Probanden abgeschwächt (**Abbildungen 4, 5**). Die Determinanten eines mahlzeitenabhängigen Anstiegs der Plasma VEGF-Konzentrationen konnten jedoch nicht durch die erhobenen Daten beurteilt werden. Die Varianz der $VEGF-AUC_{Mahlzeitstimulation}$ wurde weder durch Insulin noch durch Glukose, ACTH, Kortisol oder die Kohlenhydrat-, Fett- bzw. Eiweißaufnahme erklärt. Dennoch scheinen SNS und VEGF, synergistisch bei der effizienten Glukosebereitstellung für das Gehirn zu arbeiten.

DISKUSSION

Eine hohe SNS-Aktivität nach Nahrungsaufnahme verhindert also die Glukoseaufnahme über den insulinabhängigen GLUT4 in periphere Gewebe, z.B. Muskulatur und Fettgewebe (Kolb, 1991). VEGF fördert den GLUT1-vermittelten Glukosetransport über die BHS durch Beeinflussung seiner Expression sowie Translokation (Sone et al., 2000) und führt über Induktion endothelialer Fenestrierung zu einer Permeabilitätssteigerung der BHS (Wang et al., 1996). Die Permeabilitätssteigerung der BHS wird durch die Verbindung des intrazellulären Anteils von GLUT1-Molekülen mit einer ATP-Bindungskassette (Blodgett et al., 2007) möglich. Ist intrazellulär am GLUT1-Molekül kein ATP mehr gebunden, öffnet sich der Transportkanal durch Änderung seiner Konformation. Glukose kann in die Zellen hinein fließen. Es wurde bereits gezeigt, dass das SNS und VEGF auf unterschiedliche Stimuli wie zum Beispiel Hypoglykämie synergistisch arbeiten (Dantz et al., 2002).

Im Gegensatz zur mahlzeitstimulierten VEGF-Konzentration, unterschieden sich die präprandialen VEGF-Konzentrationen zwischen normalgewichtigen und adipösen Probanden nicht (**Tabelle 2**). Übereinstimmend mit diesem Ergebnis konnten Rehman et al. (2003) ebenfalls keinen Unterschied der VEGF-Konzentrationen bei normalgewichtigen und adipösen Probanden zeigen (Rehman et al., 2003). Im Gegensatz dazu zeigte eine andere Studie, dass adipöse Probanden im Vergleich zur normalgewichtigen Kontrollgruppe höhere VEGF-Konzentrationen hatten, die nach einer Gewichtsabnahme durch Übergewichtschirurgie abfielen (Garcia et al., 2008). Diese Ergebnisse könnten möglicherweise durch eine höhere viszerale Fettmasse bei adipösen Probanden (Rehman et al., 2003) und / oder durch die Bedingungen, unter denen die Plasma VEGF-Konzentrationen gemessen wurden, erklärt werden.

Eine Limitation dieser Studie war das Design einer kurzzeitigen Interventionsstudie, das die Untersuchung der kausalen Zusammenhänge zwischen VEGF und der Pathogenese von Adipositas nicht erlaubt. Ebenfalls konnte ich die Herkunft des zirkulierenden VEGF nicht klar festlegen, da es sowohl in der Hypophyse als auch in vielen anderen peripheren Geweben expremiert wird (Ferrara et al., 1992). Die frühe Antwort von VEGF während kritischer Bedingungen wie Hypoglykämie und sein mutmaßlich direkter Zugang zur systemischen Zirkulation deuten jedoch darauf hin, dass das Hypothalamus-

DISKUSSION

Hypophysen-System der wichtigste Bildungsort von VEGF ist (Dantz et al., 2002). Dies wird durch funktionelle und anatomische Kriterien unterstützt.

VEGF erfüllt funktionelle Kriterien eines gegenregulatorischen Hormons:

1. während einer Hypoglykämie stieg die VEGF-Konzentration, hingegen fiel die VEGF-Konzentration als Antwort auf eine Hyperglykämie ab (Oltmanns et al., 2008).
2. die VEGF-Konzentration stieg bereits bei einer milden, kurzzeitigen Hypoglykämie an, das heißt bei 4,2 mmol/L (Dantz et al., 2002; Kristensen et al., 2009). Stärkere VEGF-Antworten auf eine Hypoglykämie waren dabei mit einer besseren kognitiven Leistung assoziiert (Dantz et al., 2002).
3. nach vorangegangener Hypoglykämie verlief der Anstieg von VEGF abgeschwächt (Merl et al., 2005), ähnlich wie bei Hormonen wie Epinephrin, Glukagon, Kortisol und Wachstumshormon auf nachfolgende Hypoglykämie (Dagogo-Jack et al., 1993).

Hinsichtlich der anatomischen Kriterien liegen Zellen, die VEGF sezernieren, in enger Nachbarschaft zu Zellen, die andere gegenregulatorische Hormone sezernieren wie basophile Hypophysenzellen oder Zellen des paraventriculären Hypothalamus, die Hormone wie ADH (antidiuretisches Hormon), CRH und PACAP sezernieren. PACAP kann als ein *Releasing*-Hormon von VEGF angesehen werden, da die VEGF-Sekretion aus den Follikularzellen durch PACAP stimuliert und durch Glukokortikoide gehemmt wird (Gloddek et al., 1999).

Zusammenfassend bieten die Daten einen ersten Hinweis darauf, dass eine mahlzeitenstimulierte VEGF-Sekretion als ein Biomarker für die Diagnose eines kompetenten *Brain-pulls* verwendet werden kann. Wenn ein Arzt die Inkompetenz des *Brain-pulls* diagnostiziert, sollte sich eine Differentialdiagnose hierfür anschließen. Verschiedene Ursachen eines inkompetenten *Brain-pulls* wurden bereits in der Literatur beschrieben: Hirntumore, genetische, epigenetische und perinatale Programmierung, Verhaltenskonditionierung, psychotrope und metabotrope Medikamente sowie Falschsignale, z.B. durch Süßstoffe, die in das Süßempfinden eingreifen (Peters et al., 2009).

Niedrige VEGF-Konzentrationen können also helfen, einen inkompetenten *Brain-pull* zu diagnostizieren, der kritisch für die Entstehung von Übergewicht ist (Peters et al., 2009).

5 ZUSAMMENFASSUNG

Es konnte kürzlich gezeigt werden, dass ein kompetenter *Brain-pull*-Mechanismus unentbehrlich für die Aufrechterhaltung der Energiehomöostase ist. *Brain-pull* bedeutet hierbei die Fähigkeit des Gehirns, Energie wie Glukose aus dem Körper anzufordern.

Durch seine Funktion als Regulator des GLUT1-abhängigen Glukosetransports über die BHS, wurde in der vorliegenden Arbeit VEGF als möglicher Biomarker eines kompetenten *Brain-pulls* untersucht.

Hierfür verglich ich die Plasma VEGF-Konzentrationen nach Mahlzeit- und CRH-Stimulation bei normalgewichtigen (n=15) und adipösen (n=10) Probanden. Nach Entnahme einer präprandialen Blutprobe wurde der erste Stimulationstest durch Gabe eines standardisierten Mittagessens durchgeführt. Blutproben wurden nachfolgend 30 und 60 Minuten postprandial entnommen, die Messwerte wurden für weitere Analysen gemittelt. In einem zweiten Stimulationstest wurde CRH (1 µg / kg Körpergewicht) appliziert; vier Messungen der VEGF-Konzentration nach Applikation wurden gemittelt; *area under the curves* wurden berechnet.

Normalgewichtige und adipöse Probanden unterschieden sich nicht in den präprandialen Plasma VEGF-Konzentrationen ($27,6 \pm 3,1$ vs. $23,1 \pm 2,3$ ng/L; $p > 0,05$). Dagegen war die VEGF-AUC_{Mahlzeitstimulation} bei normalgewichtigen gegenüber adipösen Probanden höher ($31,7 \pm 3,0$ vs. $24,4 \pm 1,3$ ng/L*60min⁻¹; $p < 0,05$). Verglichen mit dem präprandialen Wert, erhöhte die Mahlzeitstimulation die Plasma VEGF-Konzentration um 42% bei normalgewichtigen ($p < 0,05$), aber nicht bei adipösen Probanden. Die CRH-Stimulation hatte keinen Einfluss auf die Plasma VEGF-Konzentrationen bei normalgewichtigen oder adipösen Probanden. Zusammenfassend könnte die Plasma VEGF-Konzentration nach Mahlzeitstimulation daher ein nützlicher Biomarker für einen kompetenten *Brain-pull* sein.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Ahren, B. (2000). Autonomic regulation of islet hormone secretion-- implications for health and disease. Diabetologia, 43, 393-410.

Benedict, C., Hallschmid, M., Scheibner, J., Niemeyer, D., Schultes, B., Merl, V., Fehm, H. L., Born, J., & Kern, W. (2005). Gut protein uptake and mechanisms of meal-induced cortisol release. J Clin.Endocrinol.Metab, 90, 1692-1696.

Blodgett, D. M., De Zutter, J. K., Levine, K. B., Karim, P., & Carruthers, A. (2007). Structural basis of GLUT1 inhibition by cytoplasmic ATP. J.Gen.Physiol, 130, 157-168.

Burdakov, D., Jensen, L. T., Alexopoulos, H., Williams, R. H., Fearon, I. M., O'Kelly, I., Gerasimenko, O., Fugger, L., & Verkhratsky, A. (2006). Tandem-pore K⁺ channels mediate inhibition of orexin neurons by glucose. Neuron, 50, 711-722.

Chan, S. L., Dunne, M. J., Stillings, M. R., & Morgan, N. G. (1991). The alpha 2-adrenoceptor antagonist efaroxan modulates K⁺ATP channels in insulin-secreting cells. Eur.J.Pharmacol., 204, 41-48.

Chiodera, P., Volpi, R., Capretti, L., Caffarri, G., Magotti, M. G., & Coiro, V. (1996). Effects of intravenously infused pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide on adenohipophyseal Hormone secretion in normal men. Neuroendocrinology, 64, 242-246.

LITERATURVERZEICHNIS

Chrousos, G. P., Calabrese, J. R., Avgerinos, P., Kling, M. A., Rubinow, D., Oldfield, E. H., Schuermeyer, T., Kellner, C. H., Cutler, G. B., Jr., Loriaux, D. L. (1985). Corticotropin releasing factor: basic studies and clinical applications. Prog.Neuropsychopharmacol.Biol.Psychiatry, 9, 349-359.

Dagogo-Jack, S. E., Craft, S., & Cryer, P. E. (1993). Hypoglycemia-associated autonomic failure in insulin-dependent diabetes mellitus. Recent antecedent hypoglycemia reduces autonomic responses to, symptoms of, and defense against subsequent hypoglycemia. J Clin.Invest, 91, 819-828.

Dantz, D., Bewersdorf, J., Fruehwald-Schultes, B., Kern, W., Jelkmann, W., Born, J., Fehm, H. L., & Peters, A. (2002). Vascular endothelial growth factor: a novel endocrine defensive response to hypoglycemia. J Clin.Endocrinol.Metab, 87, 835-840.

Doronzo, G., Russo, I., Mattiello, L., Riganti, C., Anfossi, G., & Trovati, M. (2006). Insulin activates hypoxia-inducible factor-1alpha in human and rat vascular smooth muscle cells via phosphatidylinositol-3 kinase and mitogen-activated protein kinase pathways: impairment in insulin resistance owing to defects in insulin signalling. Diabetologia, 49, 1049-1063.

Feldser, D., Agani, F., Iyer, N. V., Pak, B., Ferreira, G., & Semenza, G. L. (1999). Reciprocal positive regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha and insulin-like growth factor 2. Cancer Res., 59, 3915-3918.

Ferrara, N., Houck, K., Jakeman, L., & Leung, D. W. (1992). Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. Endocr.Rev., 13, 18-32.

LITERATURVERZEICHNIS

Follenius, M., Brandenberger, G., & Hietter, B. (1982). Diurnal cortisol peaks and their relationships to meals. J Clin.Endocrinol.Metab, 55, 757-761.

Fruehwald-Schultes, B., Kern, W., Born, J., Fehm, H. L., & Peters, A. (2000). Comparison of the inhibitory effect of insulin and hypoglycemia on insulin secretion in humans. Metabolism, 49, 950-953.

Gaillard, I., Keramidas, M., Liakos, P., Vilgrain, I., Feige, J. J., & Vittet, D. (2000). ACTH-regulated expression of vascular endothelial growth factor in the adult bovine adrenal cortex: a possible role in the maintenance of the microvasculature. J Cell Physiol, 185, 226-234.

Garcia, d. I. T., Rubio, M. A., Bordiu, E., Cabrerizo, L., Aparicio, E., Hernandez, C., Sanchez-Pernaute, A., Diez-Valladares, L., Torres, A. J., Puente, M., & Charro, A. L. (2008). Effects of weight loss after bariatric surgery for morbid obesity on vascular endothelial growth factor-A, adipocytokines, and insulin. J Clin.Endocrinol.Metab, 93, 4276-4281.

Gloddek, J., Pagotto, U., Paez, P. M., Arzt, E., Stalla, G. K., & Renner, U. (1999). Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide, interleukin-6 and glucocorticoids regulate the release of vascular endothelial growth factor in pituitary folliculostellate cells. J Endocrinol., 160, 483-490.

Gonzalez, J. A., Jensen, L. T., Fugger, L., & Burdakov, D. (2008). Metabolism-independent sugar sensing in central orexin neurons. Diabetes, 57, 2569-2576.

Hahn, T. M., Breininger, J. F., Baskin, D. G., & Schwartz, M. W. (1998). Coexpression of AgRP and NPY in fasting-activated hypothalamic neurons. Nat.Neurosci., 1, 271-272.

LITERATURVERZEICHNIS

Hannibal, J., Jessop, D. S., Fahrenkrug, J., Harbuz, M. S., & Larsen, P. J. (1999). PACAP gene expression in neurons of the rat hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis is induced by endotoxin and interleukin-1beta. Neuroendocrinology, 70, 73-82.

Hannibal, J., Mikkelsen, J. D., Fahrenkrug, J., & Larsen, P. J. (1995). Pituitary adenylate cyclase-activating peptide gene expression in corticotropin-releasing factor-containing parvicellular neurons of the rat hypothalamic paraventricular nucleus is induced by colchicine, but not by adrenalectomy, acute osmotic, ether, or restraint stress. Endocrinology, 136, 4116-4124.

Hauner H, Buchholz G, Hamann A, Husemann B, Koletzko B, Liebermeister H, Wabitsch M, Westenhöfer J, Wirth A, & Wolfram G (2006). Evidenzbasierte Leitlinie - Prävention und Therapie der Adipositas.

Hitze, B., Hubold, C., van Dyken, R., Schlichting, K., Lehnert, H., Entringer, S., & Peters, A. (2010). How the selfish brain organizes its supply and demand. Front Neuroenergetics., 2, 7.

Hubold, C., Oltmanns, K. M., Schultes, B., Jelkmann, W., Born, J., Fehm, H. L., Schweiger, U., & Peters, A. (2006). High plasma VEGF relates to low carbohydrate intake in patients with type 2 diabetes. Int.J Obes.(Lond), 30, 1356-1361.

Jansen, A. S., Hoffman, J. L., & Loewy, A. D. (1997). CNS sites involved in sympathetic and parasympathetic control of the pancreas: a viral tracing study. Brain Res., 766, 29-38.

LITERATURVERZEICHNIS

Knoll, E., Muller, F. W., Ratge, D., Bauersfeld, W., & Wisser, H. (1984). Influence of food intake on concentrations of plasma catecholamines and cortisol. J Clin.Chem.Clin.Biochem., 22, 597-602.

Kolb, E. (1991). [Recent knowledge of the function of glucose transport molecules in cell membranes, of the regulation of their composition and of modification of their activity and changes in concentration in diseases (diabetes mellitus, Tumors)]. Z.Gesamte Inn.Med., 46, 595-601.

Kristensen, P. L., Hoi-Hansen, T., Boomsma, F., Pedersen-Bjergaard, U., & Thorsteinsson, B. (2009). Vascular endothelial growth factor during hypoglycemia in patients with type 1 diabetes mellitus: relation to cognitive function and renin-angiotensin system activity. Metabolism.

Landsberg, L. (2006). Feast or famine: the sympathetic nervous system response to nutrient intake. Cell Mol.Neurobiol., 26, 497-508.

Magistretti, P. J., Pellerin, L., Rothman, D. L., & Shulman, R. G. (1999). Energy on demand. Science, 283, 496-497.

Mani, N., Khaibullina, A., Krum, J. M., & Rosenstein, J. M. (2003). Activation of receptor-mediated angiogenesis and signaling pathways after VEGF administration in fetal rat CNS explants. J Cereb.Blood Flow Metab, 23, 1420-1429.

McDermott, A. M. & Sharp, G. W. (1993). Inhibition of insulin secretion: a fail-safe system. Cell Signal., 5, 229-234.

LITERATURVERZEICHNIS

Merl, V., Peters, A., Oltmanns, K. M., Kern, W., Hubold, C., Fehm, H. L., Born, J., & Schultes, B. (2005). Antecedent hypoglycaemia attenuates vascular endothelial growth factor response to subsequent hypoglycaemia in healthy men. Diabet.Med, 22, 1278-1281.

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

Mulder, A. H., Tack, C. J., Olthaar, A. J., Smits, P., Sweep, F. C., & Bosch, R. R. (2005). Adrenergic receptor stimulation attenuates insulin-stimulated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes by inhibiting GLUT4 translocation. Am.J.Physiol Endocrinol.Metab, 289, E627-E633.

Oltmanns, K. M., Melchert, U. H., Scholand-Engler, H. G., Howitz, M. C., Schultes, B., Schweiger, U., Hohagen, F., Born, J., Peters, A., & Pellerin, L. (2008). Differential energetic response of brain vs. skeletal muscle upon glycemic variations in healthy humans. Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol, 294, R12-R16.

Oltmanns, K. M., Melchert, U. H., Scholand-Engler, H. G., Schultes, B., Schweiger, U., & Peters, A. (2008). Divergent effects of hyper- and hypoglycemia on circulating vascular endothelial growth factor in humans. Metabolism, 57, 90-94.

Pekala, P., Marlow, M., Heuvelman, D., & Connolly, D. (1990). Regulation of hexose transport in aortic endothelial cells by vascular permeability factor and tumor necrosis factor-alpha, but not by insulin. J Biol.Chem., 265, 18051-18054.

LITERATURVERZEICHNIS

Pellerin, L. & Magistretti, P. J. (1994). Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., 91, 10625-10629.

Peters, A. (2009). Zentrale Glukoseregulation. Diabetologe, 5, 133-142.

Peters, A. & Langemann, D. (2009). Build-ups in the supply chain of the brain: on the neuroenergetic cause of obesity and type 2 diabetes mellitus. Front Neuroenergetics., 1, 2.

Peters, A., Pellerin, L., Dallman, M. F., Oltmanns, K. M., Schweiger, U., Born, J., & Fehm, H. L. (2007). Causes of obesity: looking beyond the hypothalamus. Prog.Neurobiol., 81, 61-88.

Peters, A., Schweiger, U., Pellerin, L., Hubold, C., Oltmanns, K. M., Conrad, M., Schultes, B., Born, J., & Fehm, H. L. (2004). The selfish brain: competition for energy resources. Neurosci.Biobehav.Rev., 28, 143-180.

Peters, L. W., Wiefferink, C. H., Hoekstra, F., Buijs, G. J., Ten Dam, G. T., & Paulussen, T. G. (2009). A review of similarities between domain-specific determinants of four health behaviors among adolescents. Health Educ.Res., 24, 198-223.

Proescholdt, M. A., Jacobson, S., Tresser, N., Oldfield, E. H., & Merrill, M. J. (2002). Vascular endothelial growth factor is expressed in multiple sclerosis plaques and can induce inflammatory lesions in experimental allergic encephalomyelitis rats. J Neuropathol.Exp.Neurol., 61, 914-925.

LITERATURVERZEICHNIS

Rehman, J., Considine, R. V., Bovenkerk, J. E., Li, J., Slavens, C. A., Jones, R. M., & March, K. L. (2003). Obesity is associated with increased levels of circulating hepatocyte growth factor. J Am Coll.Cardiol., 41, 1408-1413.

Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Numata, Y., Tsuji, T., Hayase, M., Ebihara, K., Masuzaki, H., Hosoda, K., Yoshimasa, Y., & Nakao, K. (1999). Sympathetic activation of leptin via the ventromedial hypothalamus: leptin-induced increase in catecholamine secretion. Diabetes, 48, 1787-1793.

Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. Nature, 404, 661-671.

Shifren, J. L., Mesiano, S., Taylor, R. N., Ferrara, N., & Jaffe, R. B. (1998). Corticotropin regulates vascular endothelial growth factor expression in human fetal adrenal cortical cells. J Clin.Endocrinol.Metab, 83, 1342-1347.

Sone, H., Deo, B. K., & Kumagai, A. K. (2000). Enhancement of glucose transport by vascular endothelial growth factor in retinal endothelial cells. Invest Ophthalmol.Vis.Sci., 41, 1876-1884.

Tong, Q., Ye, C., McCrimmon, R. J., Dhillon, H., Choi, B., Kramer, M. D., Yu, J., Yang, Z., Christiansen, L. M., Lee, C. E., Choi, C. S., Zigman, J. M., Shulman, G. I., Sherwin, R. S., Elmquist, J. K., & Lowell, B. B. (2007). Synaptic glutamate release by ventromedial hypothalamic neurons is part of the neurocircuitry that prevents hypoglycemia. Cell Metab, 5, 383-393.

LITERATURVERZEICHNIS

van Dyken, R., Hubold, C., Meier, S., Hitze, B., Marxsen, A., Oltmanns, K. M., Schweiger, U., Lehnert, H., Pellerin, L., & Peters, A. (2010). Low plasma lactate concentration as a biomarker of an incompetent brain-pull: a risk factor for weight gain in type 2 diabetes patients. Psychoneuroendocrinology, *35*, 1287-1293.

Voigt K (2005). Endokrines System - Der Inselapparat des Pankreas: Insulin und Glucagon. In Klinke R, Pape HC, & Silbernagel S (Hrsg) (Eds.), Physiologie (pp. S551-559). Stuttgart New York: Thieme.

Wang, W., Merrill, M. J., & Borchardt, R. T. (1996). Vascular endothelial growth factor affects permeability of brain microvessel endothelial cells in vitro. Am J Physiol, *271*, C1973-C1980.

Wang, X., McCormick, K., & Mick, G. (2003). Nutritional regulation of white adipocyte vascular endothelial growth factor (VEGF). Horm.Metab Res., *35*, 211-216.

Welle, S. (1995). Sympathetic nervous system response to intake. Am.J Clin.Nutr., *62*, 1118S-1122S.

WHO (1995). Physical status: the use and interpretation of anthropometry: Technical Report Series. WHO.

WHO - World Health Organisation. Obesity and overweight. WHO Media centre. Internet fact sheet . 1-2-2006.

Ref Type: Internet Communication

Woods, S. C. & Porte, D., Jr. (1974). Neural control of the endocrine pancreas. Physiol Rev., *54*, 596-619.

LITERATURVERZEICHNIS

Zelzer, E., Levy, Y., Kahana, C., Shilo, B. Z., Rubinstein, M., & Cohen, B. (1998). Insulin induces transcription of target genes through the hypoxia-inducible factor HIF-1alpha/ARNT. EMBO J, 17, 5085-5094.

7 DANKSAGUNG

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. A. Peters, für die Auswahl des Themas dieser Studie und dafür, bei mir ein nachhaltiges Interesse für Abläufe des Hirnstoffwechsels zu wecken und die Studie durchzuführen. Herrn Prof. Dr. med. H. Lehnert, dem Direktor der Medizinischen Klinik I des Universitätsklinikums Lübeck, danke ich dafür in der Inneren Medizin promovieren zu können.

Ebenfalls möchte ich mich bei meinen Betreuern, Herrn Dr. med. C. Hubold und Frau Dr. Britta Kubera, für die enge Zusammenarbeit während der Durchführung der Studie sowie während der Niederschrift der Dissertation für die hervorragende wissenschaftliche Zusammenarbeit bedanken. Durch sie wurde ich in die notwendige technische Tätigkeit bei der Laborarbeit eingeführt und zum selbständigen Arbeiten angeleitet. Weiteren Dank möchte ich an das endokrinologische Laborteam, insbesondere Frau C. Otten, Frau J. Schwanbom, sowie an das Team des Zentrallabors der Universitätsklinik Lübeck für die Bestimmung der Laborparameter richten.

Für ihre organisationelle Unterstützung danke ich insbesondere Frau C. Blum. Durch ihre Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft erhöhte sie stetig meine Motivation während der Testdurchführungen.

Meinen Eltern, Birgit und Lothar Krüger, danke ich für die Ermöglichung meines Medizinstudiums sowie für ihr Vertrauen, das sie mir während der Jahre entgegengebracht haben.

Nicht zuletzt bedanke ich mich ganz besonders bei meinem Ehemann, Sebastian Laube, der mich moralisch und faktisch insbesondere während der Niederschrift der Arbeit unterstützte und mich zu jeder Zeit motivierte, die Arbeit zu beenden.

8 LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Heli Laube, geb. Krüger

Geboren 03.02.1978 in Frankfurt (Oder)

Anschrift Weg zum Hofsee 22, 19406 Kobrow



Schulbildung:

1984 – 1985 Erich-Weinert-Schule (POS) in Frankfurt (Oder)

1986 – 1992 Ernst-Thälmann-Schule (POS) Brüel

1992 – 1996 Gymnasium Brüel, Abschluss mit Abitur

Berufsausbildung:

1996 – 1999 Medizinalfachschnle der Charité Berlin, Abschluss als staatlich anerkannte Diätassistentin

2002 MEDICENT GmbH Hamburg, Abschluss als Rettungssanitäterin

Studium und Beruf:

1999 – 2006 Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Abschluss des Studiums der Humanmedizin als Ärztin

Seit 2006 Assistenzarztausbildung zum Facharzt für Allgemeinmedizin