

Gesättigte freie Fettsäuren als Transmitter zwischen
peripheren Fettdepots und Insulinresistenz im Gehirn

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

Düsing, Stephan

2016

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Fritsche
2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Braun

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung.....	1
1.1	Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus	1
1.1.1	Insulinresistenz in der Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus	1
1.2	Insulinwirkung am ZNS	2
1.3	Problemstellung und Studienplanung.....	4
2.	Probanden, Material und Methoden.....	6
2.1	Probanden.....	6
2.2	Apparaturen.....	7
2.3	Infusionslösungen	8
2.3.1	Venenverweilkatheter und andere Materialien.....	8
2.4	Studienablauf	10
2.4.1	Studiendesign.....	10
2.4.2	Mehrstufiger hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp	11
2.4.3	Kontrollversuch.....	13
2.5	Magnetoenzephalographie.....	13
2.5.1	Methode.....	13
2.5.2	Durchführung der MEG-Messung.....	13
2.6	Messung des Anteils des Viszeralfettes und des intrahepatischen Fettanteils mittels Magnetresonanztomographie.....	15
2.7	Laborparameterbestimmung	15
2.8	Statistik.....	17
3.	Ergebnisse.....	18
3.1	Korrelation von Insulin-vermittelten Veränderungen in der kortikalen Aktivität und bestimmten Fettdepots	18

3.1.1	Erhöhte viszerale Fettmassen und Reduktion des Insulineffektes auf die Theta-Aktivität.....	18
3.1.2	Erhöhter Fettgehalt der Leber und Reduktion des Insulineffektes auf die Theta-Aktivität.....	20
3.2	Die Rolle von Adipozytokinen und Entzündungsmarkern.....	21
3.2.1	Die Rolle von Adipozytokinen	22
3.2.2	Die Rolle von Entzündungsmarkern	22
3.3	Effekte von freien Serumfettsäuren auf die zerebrokortikalen Insulineffekte	23
3.3.1	Effekt der gesättigten Fettsäuren.....	23
3.3.2	Effekt der ungesättigten Fettsäuren.....	23
3.4	Gesättigter Fettsäurespiegel als hauptsächlicher Prädiktor für zerebrale Insulinresistenz.....	24
4.	Diskussion	26
4.1	Idee der Studie.....	26
4.2	Diskussion der eigenen Ergebnisse	27
4.2.1	Viszerales Fett und Leberfett.....	27
4.2.2	Die Rolle von Adipozytokinen und Entzündungsmarkern	28
4.2.3	Mitwirkung der gesättigten Fettsäuren bei der zerebralen Insulinresistenz.....	30
4.3	Diskussion der Ergebnisse im Kontext der Literatur.....	31
4.3.1	Methodische Aspekte	31
4.3.2	Adipozytokine und Entzündungsmarker	32
4.3.3	Freie Fettsäuren	34
4.3.4	Limitationen der Studie	36
4.3.5	Möglichkeiten und Grenzen der Methode	36
4.4	Schlussfolgerung.....	37

5.	Tabellen.....	39
6.	Zusammenfassung	42
7.	Anhang	44
8.	Literaturverzeichnis.....	45
9.	Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....	52
10.	Danksagung.....	53
11.	Lebenslauf.....	54

Abkürzungsverzeichnis:

BMI	Body-Mass-Index
EEG	Elektroencephalographie
FHD	familiäre Vorbelastung für Diabetes
GIR	Glukoseinfusionsrate
GLUT	Glukosetransporter
HbA _{1c}	C-Fraktion des glykolisierten Hämoglobins
I	Insulin
ISI	Insulinsensitivitäts-Index
MEG	Magnetoenzephalographie
MMN	Mismatchnegativität
MRT	Magnetresonanztomographie
P	Placebo
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PI ₃	Phosphatidylinositol-3-Kinase
POMS	Profile of Mood States
STH	Somatotropes Hormon
TA	Theta-Aktivierung
WHR	Waist-to-hip-ratio
ZNS	zentrales Nervensystem

1. Einleitung

1.1 Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus ist eine Volkskrankheit. Immerhin geht man derzeit von über sechs Millionen Betroffenen in Deutschland aus.

Insulinresistenz und Betazell dysfunktion sind die entscheidenden pathogenetischen Mechanismen des Diabetes mellitus Typ 2. Durch eine reaktive Mehrausschüttung von Insulin durch die β -Zelle des Pankreas wird die Aufrechterhaltung der Euglykämie zunächst kompensiert. Beim Versagen des Kompensationsmechanismus durch fortschreitende Insulinresistenz und/oder Betazell dysfunktion kommt es zu einer gestörten Glukosetoleranz und/oder Nüchternhyperglykämie und schließlich zum manifesten Diabetes mellitus Typ 2 (Weyer-C, 1999).

Leider entwickelten sich bereits frühzeitig, beginnend schon in der Phase der Insulinresistenz arteriosklerotische Gefäßveränderungen der Mikro- und Makroangiopathie. Darauf basierende Folgeerkrankungen tragen stark zu Morbidität und Mortalität bei Diabetespatienten bei, so dass Prävention und Behandlung von Insulinresistenz einen hohen Stellenwert einnehmen (Matthaei, 2000).

1.1.1 Insulinresistenz in der Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus

Die Insulinresistenz mit eingeschränkter Empfindlichkeit der insulin sensitiven Körperzellen (Muskel-, Leber-, Fettzellen) und Organe geht einem diagnostizierten Diabetes mellitus bereits Jahre voraus.

Zur Quantifizierung der Insulinsensitivität bzw. der Insulinresistenz wird die Wirkung des Insulins auf die Glucoseaufnahme in einem hyperinsulinämischen Clamp gemessen (Ferrannini, et al., 1998).

Eine Insulinresistenz entsteht, wenn zum einem eine genetische Disposition besteht und/oder andere Faktoren, wie Adipositas, Bewegungsmangel, unausgewogene fettreiche Ernährung hinzukommen.

Die Insulinresistenz in Leber, Fett und Muskeln zeigt eine feste Korrelation mit Adipositas und Typ 2 Diabetes (DeFronzo, et al., 1983), (Ferrannini, et al., 1985), (Boden, 1997).

Im Skelettmuskel wurden der verminderte Glucoseumsatz durch Insulinresistenz in den letzten Jahrzehnten gut beschrieben und Bestimmungsgrößen für die periphere Insulinresistenz wie freie Fettsäuren (FFAs), Adipokine und (Mikro-) Inflammationsmechanismen umfangreich untersucht (Bays, et al., 2004).

1.2 Insulinwirkung am ZNS

Das Gehirn deckt seinen Energiebedarf fast ausschließlich durch Glucose.

Im Gegensatz zu den meisten anderen Geweben nimmt das Gehirn die Glucose hauptsächlich über den insulinunabhängigen Glucosetransporter, GLUT-1 auf. Lange galt das Gehirn daher als Insulin unabhängiges Organ. Heute weiß man, dass es auch im Gehirn Insulinrezeptoren gibt. Die höchste Insulinrezeptorendichte befindet sich im Bulbus olfactorius, Hypothalamus, Hippokampus und generell im Limbischen System (Unger, et al., 1991).

Insulin erreicht das Gehirn aus dem Systemkreislauf zum einen über Lücken in der Blut-Hirn-Schranke in zirkumventrikulären Organen (Van Houten, et al., 1983) und zum anderen mit Hilfe von Rezeptor vermitteltem Transport durch Endothelzellen der Blutgefäße (Baskin, et al., 1987).

Obwohl eine gewebespezifische Insulinresistenz für Skelettmuskel, Leber und Fettgewebe beschrieben ist und zur Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2 beiträgt, war die Bedeutung der Insulinwirkung im Gehirn lange unklar. Wesentliche Erkenntnisse diesbezüglich konnten aus tierexperimentellen Studien gewonnen werden, in denen der Insulinrezeptor spezifisch in unterschiedlichen Geweben genetisch inaktiviert wurde (Knock-out-Mäuse) (Bruning, et al., 1998), (Bruning, et al., 1997), (Kulkarni, et al., 1999).

Im Gehirn führt unangemessene Insulininteraktion zur Beeinträchtigung der Regulation des Körpergewichtes und der Suppression der hepatischen Glukoneogenese während peripherer Hyperinsulinämie (Bruning, et al., 2000), (Obici, et al., 2002), (Obici, et al., 2002), (Schwartz, et al., 2000).

Der Gedanke, dass die beeinträchtigte Insulinsensitivität in bestimmten Hirnregionen zur Entstehung und Aufrechterhaltung von Adipositas mit und nachträglich zur Entstehung eines Typ 2 Diabetes mellitus beiträgt, ist daher naheliegend.

Es ist bekannt, dass die Insulinwirkung im Gehirn eine Rolle im Glucosestoffwechsel spielt und so in den Energiehaushalt sowie in die Nahrungsaufnahme des Menschen eingreift (Bruning, et al., 2000), (Schwartz, et al., 1992). Das postprandial ausgeschüttete Insulin bewirkt im Zentralnervensystem eine Hemmung zur weiteren Nahrungsaufnahme. Es wird vermutet, dass eine Insulinresistenz im Zentralnervensystem diesen Regulationsmechanismus stören und so zur Adipositas beitragen kann (Guthoff, et al., 2010).

Auch existieren Hinweise, dass gestörter Insulin- und Glucosestoffwechsel mit verschiedenen hirnorganischen Krankheiten in Zusammenhang stehen. So wird zum Beispiel ein Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und der Entwicklung von M. Alzheimer vermutet. Es gibt sogar Studien, die darauf hinweisen, dass Diabetes mellitus das Risiko für diese Krankheit nahezu verdoppelt (Leibson, et al., 1997), (Ott, et al., 1996).

Im Gegensatz zur Insulinresistenz von Leber, Skelettmuskulatur und Fettgewebe sind die Stoffwechselfaktoren und Mechanismen die zur Entstehung einer zentralen Insulinresistenz im Gehirn führen weitestgehend unbekannt. Mutmaßlich könnten die selben Einflussfaktoren, die mit einer Gewichtszunahme und Adipositas einhergehen verantwortlich gemacht werden. In vorangegangenen Untersuchungen wurde die Magnetoenzephalographie (MEG) genutzt um den Effekt von Insulin auf die Aktivität des menschlichen Gehirns zu untersuchen (Tschritter, et al., 2006). Dabei konnte eine modulierende Wirkung des Insulins in der Spontanaktivität des zerebralen

Kortex und eine Steigerung in den Beta- und Theta-Frequenzbanden bei schlanken Probanden nachgewiesen werden. Als Kontrast zeigte sich die insulininduzierte Zunahme der Beta- und Theta-Aktivität bei adipösen Probanden reduziert und könnte daher als ein Indikator für zentrale Insulinresistenz aufgefasst werden. Weitere Analysen dieser Beobachtung erbrachten die Ergebnisse, dass ein Abfall der Beta-Aktivität bei Adipositas hauptsächlich eine Maßgabe des Alters ist, dahingegen der Effekt des Insulins auf die Theta-Aktivität mit der Zunahme des Körpergewichts korreliert (Tschritter, 2009). Die Insulineffekte auf die Theta- und die Beta-Aktivität könnten also unterschiedlichen Einflussfaktoren unterliegen. Der Zusammenhang mit Adipositas scheint jedenfalls beim Insulineffekt auf die Theta-Aktivität stärker als bei dem Insulineffekt auf die Beta-Aktivität zu sein. Metabolische Faktoren, die bei Adipösen periphere Insulinresistenz verursachen, könnten somit für die Untersuchung des Insulineffektes auf die Theta-Aktivität besonders relevant sein.

1.3 Problemstellung und Studienplanung

Da es bereits Studien gibt, die gezeigt haben, dass die zentrale Insulinresistenz nicht zwangsweise mit der peripheren Insulinresistenz assoziiert sein muss, zielt unsere Untersuchung auf die Analyse der Zusammenhänge von kortikaler Insulinresistenz und den bei Adipositas vermehrten viszeralen Fettdepots und den folgenden metabolischen Stoffwechselstörungen ab.

Hierbei wurden die metabolischen Faktoren und Mechanismen, die den Unterschied in der Insulinresistenz im Gehirn und der Peripherie ausmachen untersucht.

Die zerebrokortikale Antwort auf Insulin wurde durch Magnetoenzephalographie (MEG) aufgezeigt. Diese nicht-invasive Methode misst Magnetfelder, die durch die elektrische Aktivität kortikaler Neurone induziert werden. Verwendet wurde

die Magnetoenzephalographie während eines mehrstufigen hyperinsulinämischen euglykämischen Clamps zur Bestimmung der peripheren Insulinsensitivität und demonstrierte auf diese Weise den Einfluss von peripher verabreichten Insulin auf die kortikale Informationsverarbeitung.

Die Ergebnisse wurden mit Messungen der Adipositas, durch Erfassung des Leber- und Viszeralfettgehalts mittels Magnetresonanztomographie (MRI) und Magnetresonanztomographie (MRS) (Wagenknecht, et al., 2003), (Katsuki, et al., 2003), (Kelley, et al., 2003), (Seppala-Lindroos, et al., 2002) mit der Untersuchung von Adipokinen, zirkulierenden Entzündungsparametern und freien Serumfettsäuren korreliert.

Ziel der Arbeit war die Ermittlung von Serumparametern, die eine mögliche zerebrokortikale Insulinresistenz aufdecken und mit den in der Pathogenese des Typ 2 Diabetes mellitus bedeutsamen Parametern, wie der peripheren Insulinsensitivität, in Verbindung stehen.

Wir stellten einen Vergleich der zentralen Insulinwirkung zwischen Normalgewichtigen und Adipösen an, um Unterschiede in der zerebralen Insulinantwort beider Probandengruppen herauszufinden, um hierdurch die Bedeutung einer möglichen Insulinresistenz des ZNS in der Entwicklung von Adipositas und Typ 2 Diabetes mellitus zu explorieren.

Eine zerebrokortikale Insulinresistenz wird auch als ein eigenständiger pathogenetischer Faktor postuliert, der nicht oder nur teilweise mit der peripheren Insulinresistenz zusammenhängt.

2. Probanden, Material und Methoden

2.1 Probanden

An der Studie nahmen 49 Probanden teil, die nach eigenen Angaben anamnestisch, mittels eines Fragebogens eruiert, und nach klinischer Untersuchung als gesund galten.

Alle Studienteilnehmer mussten sich als Nichtdiabetiker in einem Glucosetoleranztest nach den Kriterien der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und der American Diabetes Association (ADA) präsentieren.

Die genaue Beschreibung der Probanden befindet sich in der Tabelle 1.

Ausgeschlossen wurden Personen mit klinisch relevanten Erkrankungen (inklusive psychischer Erkrankungen, zum Beispiel Klaustrophobie) sowie schwangere und stillende Frauen.

Weitere Ausschlusskriterien waren:

- größere Metallimplantate,
- kürzer als drei Monate zurückliegende Operationen,
- jede Medikamenteneinnahme außer Hormonsubstitution (z. B. Kontrazeptiva),
- gleichzeitige Teilnahme an anderen Studien,
- BMI > 35 kg/m².

Die Versuchsteilnehmer wurden im Vorfeld der Studie über deren Ziel, Ablauf, Durchführung und mögliche Risiken aufgeklärt und mussten vor Beginn des ersten Untersuchungstages ihr schriftliches Einverständnis geben.

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität Tübingen geprüft und zugelassen.

2.2 Apparaturen

Zur Durchführung der Untersuchungen verwendeten wir folgende Geräte:

Infusionspumpe:	Perfusor [®] Secura FT
Hersteller:	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Verwendung:	Infusion von Insulin und Kochsalzlösung
Infusionspumpe:	Infusomat [®]
Hersteller:	B. Braun Melsungen AG, Melsungen
Verwendung:	Infusion von Glukose, Sterofundin und Kochsalzlösung
Glukosemessung:	HemoCue [®]
Hersteller:	HemoCue AB Ängelholm, Schweden
Verwendung:	Blutglukosemessung
MR-Tomograph:	1,5 T
Hersteller:	Siemens
Magneto- enzephalograph:	Ganzkopf-Magnetencephalographen
Hersteller:	CTF Systems Inc, Port Coquitlam, B.C., Canada
Blutgasanalyse- messgerät:	YSI [®] Inc.
Verwendung:	Plasma-Glukosemessung im OGTT

2.3 Infusionslösungen

Folgende Infusionslösungen kamen bei unseren Experimenten zur Anwendung:

Kochsalzlösung: NaCl[®] 0,9% (500ml), NaCl[®] 0,9% (100ml)

Hersteller: Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg

Spüllösung: Sterofundin[®] 1/1

Hersteller: B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Glukoselösung: Glucosteril[®] G 20

Hersteller: Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg

Insulinlösung: Insuman Rapid[®] 40

Hersteller: Aventis Pharma Deutschland GmbH, Bad Soden am Ts.

Kaliumlösung: Kaliumchlorid-Köhler 7,45%

Hersteller: Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Ahlsbach-Hähnlein

2.3.1 Venenverweilkatheter und andere Materialien

Am Versuchstag wurden zunächst zwei venöse Zugänge zur Durchführung der Blutuntersuchungen gelegt. Einer der beiden Zugänge wurde am Handrücken retrograd platziert und diente der regelmäßigen Blutentnahme zur Bestimmung von Glukose, Serumosmolalität, Elektrolyten und Hormonen.

Der zweite kontralateral in der Ellenbeuge platzierte Zugang, wurde zur Infusionsgabe verwendet, entweder für Insulin/Glucose (Glukose plus Kaliumchlorid oder Kochsalz plus Insulin) oder nur NaCl im Placebo-Versuch. Der Blutentnahmezugang wurde bevorzugt in den linken Handrücken gelegt und mit Gel-Thermopacks gewärmt, um ein annähernd arterielles Blutniveau zu erreichen (McGuire, et al., 1976).

Folgende weitere Materialien fanden Verwendung:

Venenverweilkatheter: Vasofix[®] Braunüle

Größe: 18G 1³/₄ oder 20G 1¹/₄

Hersteller: B. Braun Melsungen AG, Melsungen

Dreiwegehahn Discofix[®], Infusomatleitung[®], Perfusorspritze[®] (50ml),
Perfusorleitung[®]

Hersteller: B. Braun Melsungen AG, Melsungen

2.4 Studienablauf

2.4.1 Studiendesign

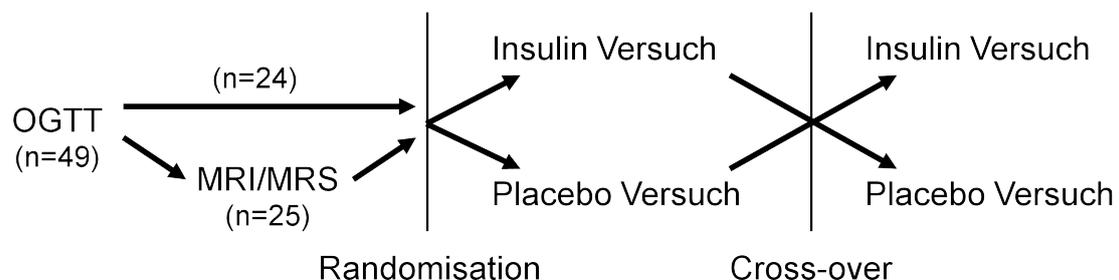
Die Probanden wurden im Vorfeld hinsichtlich ihrer allgemeinen Gesundheit mittels eines Fragebogens befragt und einer eingehenden klinischen Untersuchung unterzogen. Bei jeder Versuchsperson wurde ein Glucosetoleranztest zum Ausschluss eines Diabetes durchgeführt (Tschritter, et al., 2003) und jedem Probanden wurde 20 ml Vollblut zur Bestimmung von Blutbild, Elektrolyten, Transaminasen, Gerinnung, HbA_{1c} und Schilddrüsenhormonen abgenommen.

Nach dem Glucosetoleranztest wurden die Probanden an zwei unterschiedlichen Tagen jeweils einem zweistufigen hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp (Freychet, 2000) und wiederholten Messungen der zerebrokortikalen Aktivität mittels Magnetoenzephalographie (MEG) unterzogen. Beide Versuche waren einfach verblindet und in der Reihenfolge randomisiert.

Der Abstand zwischen den Untersuchungstagen sollte nicht kürzer als sieben Tage und nicht länger als zwei Wochen betragen.

Bei einer bestimmten Patientengruppe (n=25) wurden zudem vor der dem Insulin und Placebo Experiment die viszeralen Fettmassen und der hepatische Fettgehalt mit Magnetresonanztomographie (MRT) bildlich und spektrographisch untersucht.

Abb. 2.1: Studiendesign



2.4.2 Mehrstufiger hyperinsulinämischer euglykämischer Clamp

Die Probanden kamen um sieben Uhr nüchtern in die Klinik. Nach einer kurzen Vorbereitungsphase: Zugänge legen, Handrücken vorwärmen, begann das Experiment zunächst mit einer basalen Blutglucoseentnahme. Anschließend durchliefen die Probanden einen vollständigen MEG-Untersuchungszyklus (s. 1.5). Nach 30 Minuten wurde eine weitere basale Blutglucoseentnahme vorgenommen und der zweistufige hyperinsulinämische euglykämische Clamp wurde begonnen.

Die Insulininfusion (Insuman Rapid® in 0,9% NaCl-Lösung) wurde mit einem vorausgehenden Bolus (6,25mU/kg) gestartet (Zeitpunkt 0 min). Die erste, niedrige Insulininfusionsrate betrug 0,25µU/kg/min und wurde über 90 min verabreicht. Nach einem weiteren Bolus (17,25mU/kg) zum Zeitpunkt Minute 90 wurde die zweite Insulinstufe mit 1µU/kg/min gestartet und lief ab diesem Zeitpunkt für weitere 90 Minuten.

Während der gesamten Insulininfusion von 180 Minuten wurde alle fünf bis zehn Minuten der Blutzucker gemessen und mittels einer variabel laufenden Glucoseinfusion bei ungefähr 90mg/dl, im euglykämischen Bereich gehalten.

Als Maß für die periphere Insulinsensitivität wurden die Glucoseinfusionsrate (GIR) unter Steady-State-Bedingungen und der Insulinsensitivitäts-Index (ISI) berechnet.

$$\text{GIR} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{kg}} / \text{min} \right) = \text{infundierte Glucose } (\mu\text{mol}) / \text{Körpergewicht (kg)} / \text{Zeit (min)}$$

Aus den Daten des OGTT wird mit Hilfe des Index nach Matsuda 99 die abgeschätzte Insulinsensitivität ISI_{est} als Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels gewonnen:

$$ISI_{\text{est}} = \frac{1000}{\sqrt{(FPG * FPI) * (mGlc * mlns)}}$$

FPG steht für den Nüchternblutglukosewert, FPI für den Nüchterninsulinwert, mGlc für die mittlere OGTT-Glukose-Konzentration und mIns für die mittlere OGTT-Insulin-Konzentration.

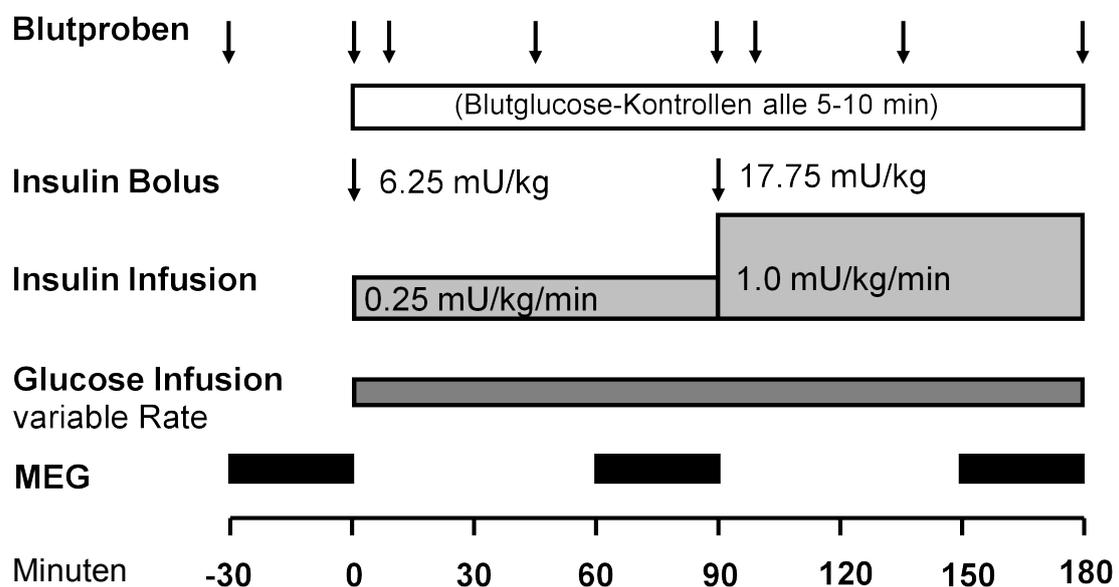
mGlc = Mittelwert (BZ0, BZ30, BZ60, BZ90, BZ120)

mIns = Mittelwert (Ins0, Ins30, Ins60, Ins90, Ins120)

Damit der Kaliumspiegel unter der Insulininfusion nicht fällt, wurde der Glucoseinfusion 20mval/l Kalium zugesetzt.

Nach jedem Ende einer Stufe (Steady-State der niedrigen und der hohen Insulininfusion) wurde ein weiterer MEG-Zyklus durch die Probanden absolviert. Vor und nach jedem MEG-Durchgang (Minute -30, 0, 60, 90, 150, 180) fand eine Blutentnahme zur Bestimmung von Hormonen, Elektrolyten und Serumosmolalität statt. Insgesamt wurden pro Untersuchungstag zirka 150ml Blutvolumen entnommen.

Abb. 2.2: Versuchsablauf



2.4.3 Kontrollversuch

Der Aufbau und die Durchführung des Kontrollversuches entsprachen genau dem des Insulin/Glucose-Versuches, nur dass statt den Insulin- und Glucoseinfusionen das gleiche Flüssigkeitsvolumen in Form von 0,9%iger NaCl- Lösung verabreicht wurde.

2.5 Magnetoenzephalographie

2.5.1 Methode

Für die Messung der MEG-Signale verwendeten wir in unseren Versuchen einen Ganzkopf-Magnetencephalographen (CTF Systems Inc, Port Coquitlam, B.C., Canada), der über 151 MEG-Sensoren verfügt.

Die Versuchspersonen nahmen während der Untersuchung auf einem Sessel in einer elektromagnetisch isolierten Kammer Platz, da die zu messenden Feldstärken sehr gering sind (ca. 10^{-12} pT) und damit das Messsystem störanfällig ist. Zudem wurden alle metallischen Gegenstände aus der Kammer ausgeschossen, auch die Infusionspumpen befanden sich außerhalb.

Zu Beginn und am Ende jeder MEG-Aufzeichnung wurde die Position des Kopfes, um Artefakte durch Translations- oder Rotationsbewegungen des Kopfes auszuschließen, anhand dreier Spulen bestimmt. Unterschieden sich die Kopfpositionen um mehr als 0,5 cm, so wurde die MEG-Aufzeichnung wiederholt.

2.5.2 Durchführung der MEG-Messung

Um die Insulinwirkung auf spontane und auditorisch stimulierte kortikale Aktivität zu erfassen wurden bei jedem Probanden am Untersuchungstag drei

MEG-Messblöcke durchgeführt: vor der Insulininfusion, am Ende der niedrigen Insulinstufe und am Ende der hohen Insulinstufe.

Ein Messblock bestand aus zwei Sitzungen von jeweils zwölf Minuten, getrennt von einer Pause von drei bis fünf Minuten. Eine Sitzung wiederum unterteilte sich in eine Ruhephase und eine mentale Aufgabe.

Die spontane kortikale Aktivität wurde in der Ruhephase bei eineinhalb Minuten offenen Augen und eineinhalb Minuten geschlossenen Augen erfasst.

Dann folgte die mentale Aufgabe, während dieser wurden der Versuchsperson zwei verschiedene Töne binaural im Verhältnis 8:2 präsentiert: Einen 1000 Hertz-Ton als Standardstimulus und einen 960 Hertz-Ton als Abweichungsstimulus. Fünf Töne mit einem Schalldruckpegel von 60dB und einer Dauer von 50ms waren auf jeden Durchgang der Sternberg-Aufgabe unregelmäßig verteilt.

Das MEG zeichnete über die gesamte Dauer der Aufgabe kontinuierlich mit einer Samplingrate von 625 Hertz auf, die auditorisch evozierten Felder wurden gemessen und die Mismatch-Negativität (Näätänen, 1991), (Näätänen, 1995), (Näätänen, 2001) bestimmt.

Um die spontane kortikale Aktivität zu analysieren wurde die durch Lutzenberger beschriebene Methode erweitert (Lutzenberger, et al., 2002). Dabei wird mit einem Randomisierungstest bestimmt, in welchem Frequenzband (delta, theta, alpha, beta, gamma) ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen und den Bedingungen auftritt. Das Problem der multiplen Vergleiche bei der hohen Anzahl der Messkanäle und Frequenzbänder wird beim Randomisierungstest berücksichtigt.

Anhand eines POMS (Profile of Mood States)-Fragebogens (Pollock, et al., 1979) und einer Skala zur Quantifizierung ihrer Bedürfnisse (Essen, Trinken, Schlafen usw.) wurde der subjektive Zustand der Versuchsteilnehmer vor jeder MEG-Messung beurteilt.

2.6 Messung des Anteils des Viszeralfettes und des intrahepatischen Fettanteils mittels Magnetresonanztomographie

An einem anderen Untersuchungstag wurden zudem bei den Probanden mittels Magnetresonanztomographie (MRT) der Anteil des viszeralen Fettes und der des intrahepatischen Fettes gemessen.

Als Grundlage der Messungen diente ein Protokoll zur Durchführung der Ganzkörperdarstellung aller Probanden mit Aufnahmen von 90 bis 120 parallelen Schnittbildern (Machmann, et al., 2005). Den Probanden wurde ein T1-gewichtetes Kontrastmittel appliziert, dieses erlaubt eine halb-automatische quantitative Abschätzung des Fettgewebsanteils und andere Gewebeanteile im Schnittbild des MRTs. Diese Methode ermöglicht es den viszeralen Fettanteil in Relation zum Körpergewicht zu quantifizieren.

Zur Bestimmung des Leberfettanteils wurden im siebten Lebersegment lokalisierte proton-magnetische Resonanzsignale aufgezeichnet (Antwortzeit = 4 Sekunden, Echozeit = 10 ms, 32 Scans). Zur quantitativen Abschätzung des Fettes in der Leber wurde das Signalintegral von Methylen und Methyl (Signale zwischen 0.7 und 1.5 ppm) analysiert. Als gewebespezifische Referenz dienten das Leberfett- und das Wassersignal.

2.7 Laborparameterbestimmung

Nach dem Ende des Versuchs wurden die bis dahin auf Eis gelagerten Blutproben sieben Minuten lang bei 4000min^{-1} zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und bis zur Bestimmung der freien Serumfettsäuren bei -20°C tiefgefroren. Ferner dienten die Proben auch der Bestimmung von Elektrolyten, Serumosmolalität und Hormonen, ein Teil der Serum- und Plasmaproben blieben als Reserve tiefgefroren.

Zentrifuge: Universal®30 RF
Hersteller: Hettich Zentrifugen, Tuttlingen

Die ganzen Fettsäuren wurden mittels Dünnschichtchromatographie (TLC) aus dem Serum extrahiert und in die verschiedenen Gruppen aufgetrennt. Anschließend wurden die freien Fettsäuren (FFA) von der TLC-Platte abgelöst und zur direkten Transesterisierung in Schraubverschlußgläser gegeben (Lepage, et al., 1986). Die quantitative Bestimmung der Fettsäuremethylester erfolgt mit Cis-13,15,19-docosatriensäure per Gaschromatographie mit einem Flammenionisationsdetektor auf einer 60 m x 0,25 mm x 0,2 µm Fused Silica Kapillare. Dabei diente Helium als Transportgas mit einem Kapillarensitzendruck von 16 psi.

Flammenionisationsdetektor: HP 5890
Hersteller: Hewlett-Packard, Waldbronn
Fused Silica Kapillaren: Rtx 2330, Rystek

Als Gesamtkonzentration der Fettsäuren wurde die Summe aller erfassten FFAs genommen. Für die Subgruppen der gesättigten, ungesättigten, einfachungesättigten (MUFA), mehrfachungesättigten (PUFA) und Omega-3-Fettsäuren diente die Summe der entsprechenden FFAs.

Die Plasmaglukose wurde im oralen Glucosetoleranztest mit der Glucoseoxidase Methode ermittelt (YSI, Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, CO, USA).

Während der Clamp-Untersuchungen wurde die Blutzuckerbestimmung mit einem HaemoCue Blutglucose-Photometer, mittels der Glucosedehydrogenase Methode, durchgeführt (HemoCue AB, Ängelholm, Sweden).

Zur Plasmainsulinkonzentrationsermittlung verwendeten wir Mikropartikel-Enzym-Immunoassay (Abbott Laboratories, Tokyo, Japan). C-reaktives Protein (CRP) wurde als hochsensitives CRP mit einem Roche/Hitachi Analyzer mittels einer standardisierten Farbmessungsmethode gemessen (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Plasma Interleukin (IL)-6 und Tumornekrosefaktor (TNF)- α wurden mit Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) ermittelt

(R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Nüchternplasmawerte von Adiponektin und Leptin wurden mit Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) bestimmt (Linco Research, St. Charles, MO).

2.8 Statistik

Die Daten wurden zunächst in Microsoft Excel[®] (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) Tabellenkalkulationen eingegeben.

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm JMP[®] (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

Für die statistische Auswertung mussten die MEG Daten des Kontrollversuches von den Daten des Insulinversuches subtrahiert werden, damit die Daten von potenziell dem Kontrollversuch abhängigen Veränderungen und von tageszeitlichen Schwankungen bereinigt sind.

Die Veränderungen der ermittelten MEG-Parameter vom basalen zur zweiten Stufe im Clamp-Versuch wurden als Indikator für den Gesamteffekt des Insulins angesehen und für alle weiteren Analysen so verwendet.

Sofern nicht anderweitig festgelegt, sind die Daten Mittelwerte \pm Standardabweichung (SE). Variable, die nicht normalverteilt waren (Shapiro-Wilk W Test), wurden logarithmisch umgewandelt. Hierdurch konnte eine Normalverteilung erzielt werden. Zur Anpassung von Covariaten und um unabhängige Beziehungen zu identifizieren, führten wir multiple Regressionsanalysen durch.

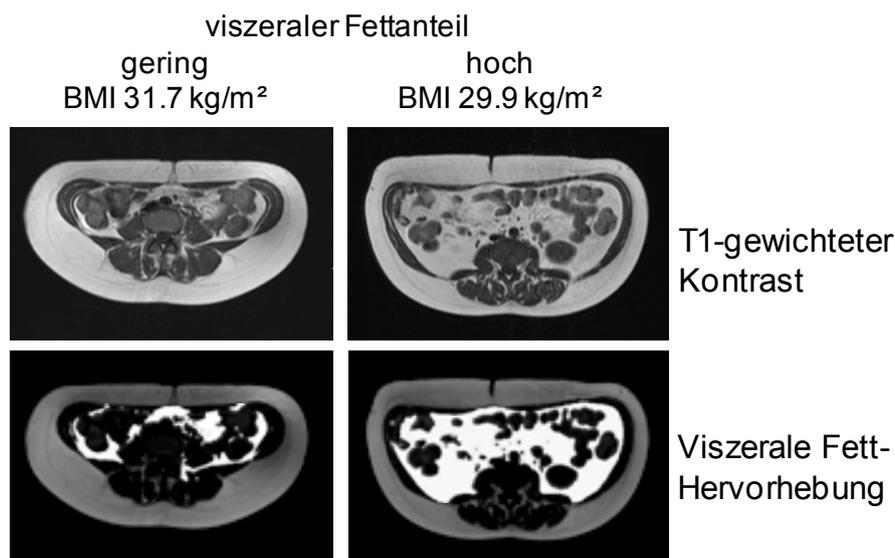
Wahrscheinlichkeiten bewerteten wir als statistisch signifikant bei $p \leq 0,05$.

3. Ergebnisse

3.1 Korrelation von Insulin-vermittelten Veränderungen in der kortikalen Aktivität und bestimmten Fettdepots

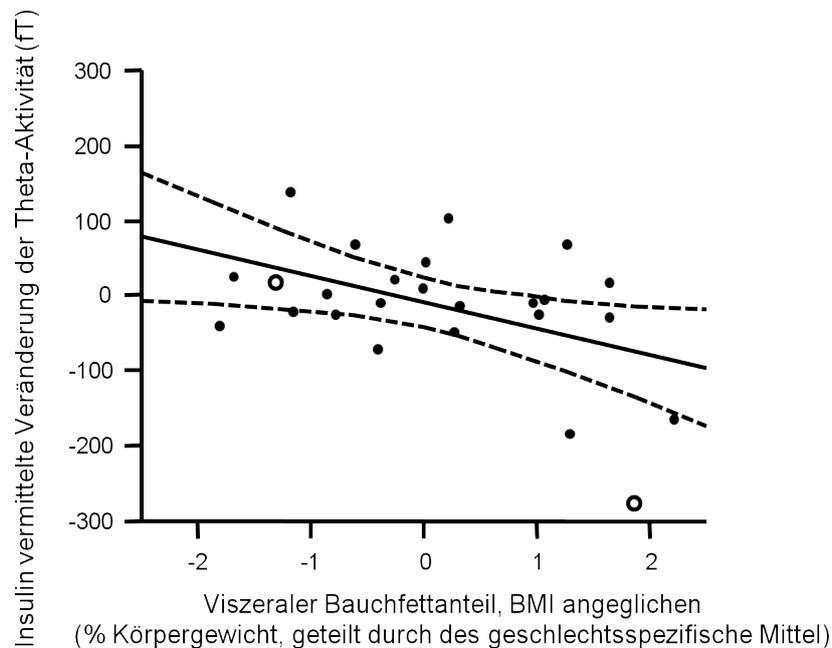
3.1.1 Erhöhte viszerale Fettmassen und Reduktion des Insulineffektes auf die Theta-Aktivität

Abb. 3.3: MRI zweier Probanden (rechts/links) in T1- und viszeraler Fettgewichtung



In der Abb. 3.3 wird der Unterschied zwischen einem hohen und einem niedrigen Anteil des viszeralen Fettes bei vergleichbar adipösen Personen visuell veranschaulicht. In der oberen Reihe sind zwei abdominale T1-gewichtete MRI-Aufnahmen von zwei adipösen weiblichen Probanden mit niedrigem (links) und hohem (rechts) viszeralem Fettanteil. In den Aufnahmen darunter ist das viszerale Fett im Gegensatz zum subkutanen Fettgewebe hervorgehoben.

Abb. 3.4: Insulin vermittelte Veränderung der Theta-Aktivität in Korrelation zum viszeralen Bauchfettanteil

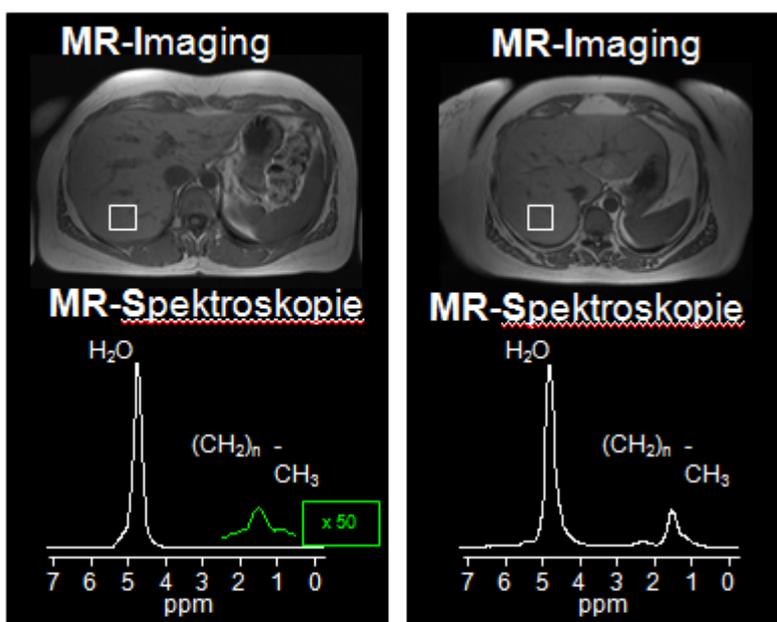


Der Insulineffekt auf die Theta-Aktivität korrelierte negativ mit den viszeralen Fettmassen (% des Körpergewichtes), unabhängig vom BMI ($p=0,021$). Die Abbildung 3.4 zeigt diesen Zusammenhang zwischen dem Insulineffekt auf die Theta-Aktivität und dem viszeralen Fett. Die Abbildung gibt das Ergebnis einer multiplen Regression wieder, in der Geschlecht und BMI als weitere unabhängige Variablen eingingen. Weibliche Probanden haben einen signifikant niedrigeren viszeralen Fettanteil als die männlichen (2.1 ± 0.4 vs. 4.8 ± 0.4 % des Körpergewichtes, $p<0.001$). Um den Geschlechtsunterschied des viszeralen Fettanteils zu korrigieren, wurde der Mittelwert des Viszeralfettanteils jeder Geschlechtsgruppe von den Werten der Einzelpersonen abgezogen. Demzufolge spricht dann ein positiver Wert für einen hohen und ein negativer Wert für einen niedrigen viszeralen Fettanteil im Vergleich zu den Personen des selben Geschlechts. Die beiden in Abbildung 3.3 gezeigten Probanden mit niedrigem und hohem viszeralem Fettanteil sind als offene Kreise gekennzeichnet, ihre BMI sind annähernd gleich.

Im Gegensatz zur Theta-Aktivität zeigte der Insulineffekt auf die Beta-Aktivität keine Korrelation mit dem viszeralen Fett in der multiplen Regression ($p=0.32$).

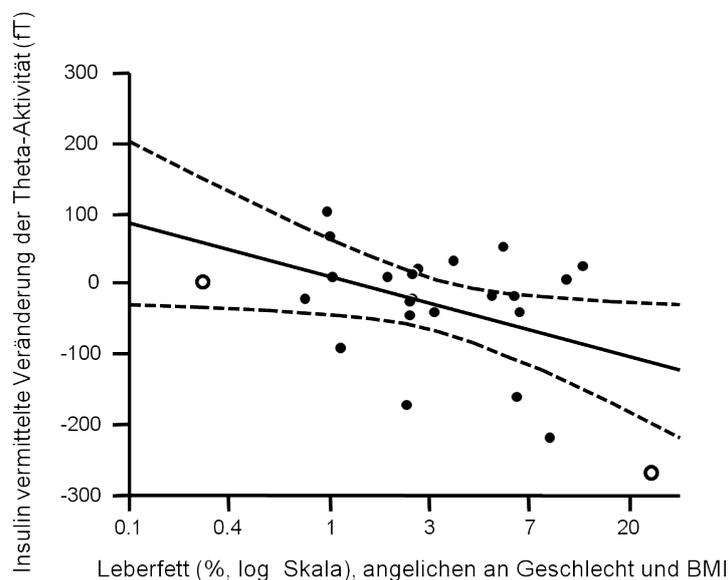
3.1.2 Erhöhter Fettgehalt der Leber und Reduktion des Insulineffektes auf die Theta-Aktivität

Abb. 3.5: MRI und MRS (Wasser- und Methylen-/Methyl-Signale) des oberen Abdomens zweier Probanden (rechts/links)



In Abbildung 3.5 sind MRI-Schnittbilder des oberen Abdomens mit ihren korrespondierenden Leber-MRS (Wasser- und Methylen-/Methyl-Signale) zweier charakteristischer Probanden mit annähernd gleichem BMI (31.2 vs. 29.9 kg/m²), mit links niedrigem und rechts hohem Leberfettanteils, aufgezeigt.

Abb. 3.6: Insulin vermittelte Veränderung der Theta-Aktivität in Korrelation zum Leberfettgehalt



Der Insulineffekt auf die Theta-Aktivität korrelierte negativ mit dem Leberfettanteil, unabhängig vom Geschlecht und BMI ($p=0.039$). Dieser Zusammenhang ist in Abbildung 3.6 wiedergegeben. Die Auswertung erfolgte als multiple Regression, in die Geschlecht und BMI als weitere unabhängige Variablen eingingen. Die Probanden mit niedrigem und hohem Leberfettanteil bei annähernd gleichen BMI aus der vorangehenden Graphik sind als offene Kreise dargestellt.

Im Gegensatz zur Theta-Aktivität zeigte der Insulineffekt auf die Beta-Aktivität keine Korrelation mit dem Leberfett in der multiplen Regression ($p=0.42$).

3.2 Die Rolle von Adipozytokinen und Entzündungsmarkern

Zahlreiche von dem Fettgewebe sezernierten Adipozytokine wurden identifiziert, die eine zentrale Rolle bei der Entstehung der Insulinresistenz und des Diabetes mellitus Typ 2 spielen. Als häufigster Risikofaktor gilt dabei die

Adipositas, besonders bedeutsam die stammbetonte Fettsucht. Auch gibt es Hinweise darauf, dass Fettgewebe in Leber und im Muskel zur Pathogenese der Insulinresistenz beitragen.

Das Fettgewebe ist ein endokrin aktives Organ, dass über die Synthese verschiedener Metabolite, Adipozytokine und Hormone eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Insulinresistenz zu spielen scheint.

3.2.1 Die Rolle von Adipozytokinen

Die Pathogenese der Adipositas basiert unter anderem auf metabolische und endokrine (Fehl-)Funktionen des Fettgewebes, wozu auch die Leptinresistenz zählt.

Untersuchungen der Theta-Aktivität hinsichtlich des Ansprechens auf Insulin zeigten eine negative Korrelation mit dem basalen Leptin-Spiegel, während Adiponektin positiv mit dem Insulineffekt auf die zerebrale Aktivität assoziiert war (Tabelle 2). Allerdings verloren beide in einer multiplen Regressions-Analyse die Signifikanz ihrer Wechselbeziehungen und sind demzufolge nicht unabhängig vom BMI (Leptin $p=0.93$, Adiponektin $p=0.32$).

3.2.2 Die Rolle von Entzündungsmarkern

Verschiedene proinflammatorische Zytokine, die mit zunehmendem BMI und Taillenumfang verstärkt exprimiert (TNF- α , IL2) werden, sind an der Pathogenese der Insulinresistenz beteiligt und bewirken bei adipösen Menschen eine erhöhte globale Inflammation.

In unseren Untersuchungen konnten wir keinen Zusammenhang der insulinvermittelten Zunahme der Theta-Aktivität durch Leukozyten, C-reaktivem Protein, TNF- α und IL-6 objektivieren. Das gilt sowohl für die (univariate) Korrelationsanalyse, als auch für die multiple Regression, in der ein möglicher Einfluss des BMI bereinigt wurde (Tabelle 2).

3.3 Effekte von freien Serumfettsäuren auf die zerebrokortikalen Insulineffekte

3.3.1 Effekt der gesättigten Fettsäuren

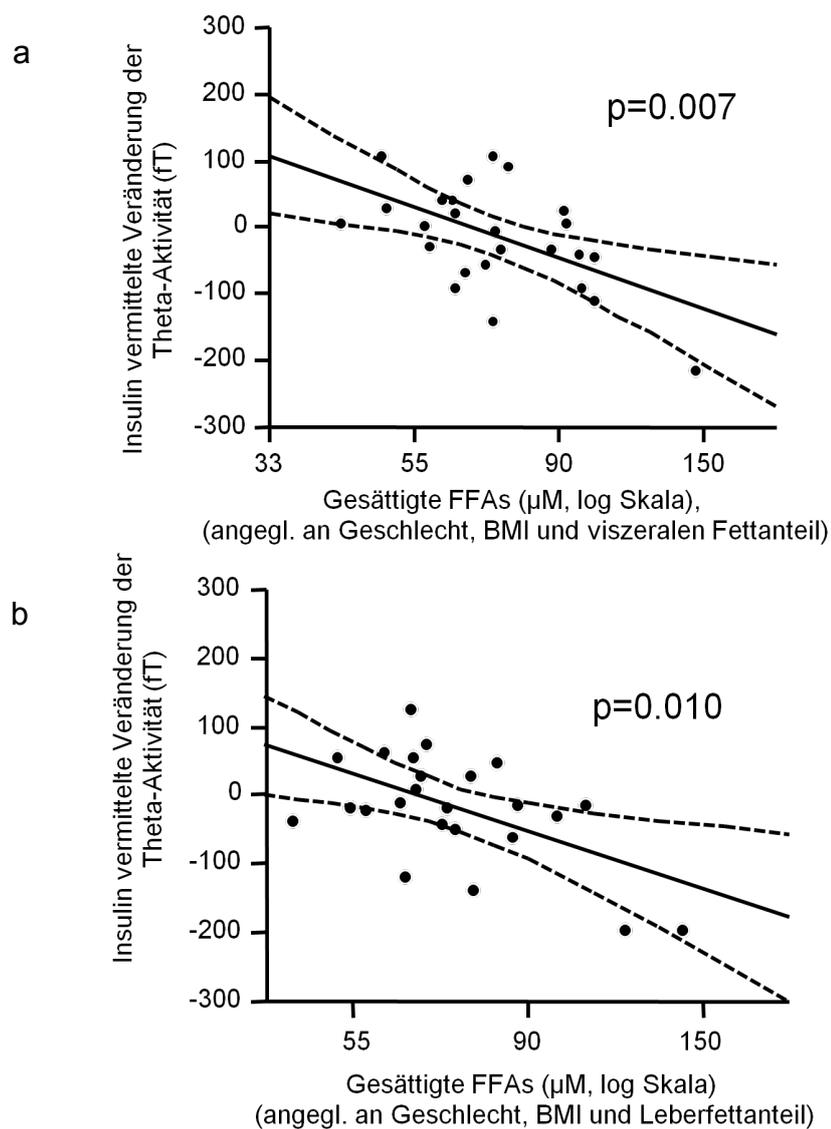
In dieser Studie wurde eine negative Korrelation zwischen der Insulinantwort in der Theta-Aktivität und der Gesamtkonzentration an freien Serumfettsäuren ermittelt ($r=-0.30$, $p=0.034$). Dies ging vor allem auf eine starke Korrelation der gesättigten Fettsäuren mit der Theta-Aktivität zurück ($r=-0.37$, $p=0.009$). Der Zusammenhang zwischen der Theta-Aktivität und den gesättigten Fettsäuren war unabhängig vom BMI ($p=0.025$) (Tabelle 2). Die Daten weiterer Analysen des Zusammenhangs der Theta-Aktivität mit jeder einzelnen Untergruppe der gesättigten freien Serumfettsäure ließen erkennen, dass jede einzelne von ihnen negativ mit dem Insulineffekt auf die Theta-Aktivität korreliert ist (Tabelle 3).

3.3.2 Effekt der ungesättigten Fettsäuren

Andererseits gab es keine Signifikanz und unabhängigen Zusammenhang von ungesättigten Fettsäuren, MUFA, PUFA oder Omega-3-Fettsäuren mit dem Insulineffekt auf die Theta-Aktivität ($p=0.10$, $p=0.11$, $p=0.11$, $p=0.19$), ausgenommen die Docosatetraensäure (Tabelle 3).

3.4 Gesättigter Fettsäurespiegel als hauptsächlichlicher Prädiktor für zerebrale Insulinresistenz

Abb. 3.7a und b: Insulinvermittelte Veränderungen der Theta-Aktivität



Um zu untersuchen, ob gesättigte freie Fettsäuren ein Mediator sein könnten, über die viszerale Fettgewebe und Leberverfettung zu zerebraler Insulinresistenz führen, haben wir zwei weitere Regressionsanalysen

durchgeführt. Dabei diene der Insulineffekt auf die Theta-Aktivität jeweils als abhängige Variable. Als unabhängige Variablen in beiden Analysen dienten BMI und Geschlecht neben dem viszeralen Fettanteil in der einen und dem Leberfettanteil in der anderen Analyse.

Abbildung 3.7 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Insulineffekt auf die Theta-Aktivität und den gesättigten Fettsäuren. In der Abbildung 3.7a ist dieser Zusammenhang für die Analyse mit viszeralem Fett als unabhängige Variable dargestellt, in der Abbildung 3.7b für die Analyse mit Leberfett.

In diesen Modellen konnte kein Zusammenhang von gesättigten Fettsäuren sowie der Theta-Aktivität und dem viszeralen Fettanteil ($p=0.007$) und Leberfettanteil ($p=0.010$) nachgewiesen werden. Interessant ist, dass der viszerale Fettanteil und der Leberfettanteil in diesem Model ihre Signifikanz verlieren ($p=0.23$ und $p=0.94$) und damit eine direkte Beziehung von freien Fettsäuren und zerebraler Insulinresistenz zeigen.

Die insulinvermittelte Veränderung in der Theta-Aktivität korrelierte negativ mit den schnellen Serumkonzentrationen von gesättigten freien Fettsäuren, unabhängig vom BMI, dem Geschlecht, dem viszeralen Fettanteil (A) und dem Leberfettanteil (B) ($p=0.007$ und $p=0.010$, jeweils). Fügt man die ungesättigten Fettsäuren zum Modell hinzu, ging der Zusammenhang von insulinvermittelter Theta-Aktivität und viszeralem Fett- und Leberfettanteil verloren ($p=0.23$ und $p=0.94$, jeweils).

4. Diskussion

4.1 Idee der Studie

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Frage, ob gesättigte Fettsäuren als Transmitter zwischen peripheren Fettdepots und der Insulinresistenz im Gehirn in Zusammenhang stehen.

Die Arbeitsgruppe von O. Tschritter konnte wie bereits in früheren Studien zeigen, dass bei adipösen Menschen die Antwort auf Insulin in peripheren Geweben und im Gehirn abgeschwächt ist. Die Insulinresistenz des Gehirns steht nur schwach mit der peripheren Insulinsensitivität der selben Individuen in Korrelation. Dennoch gibt es eine zunehmende Beweisführung, dass die zentrale Insulinresistenz nicht zwangsweise mit der peripheren Insulinresistenz zusammengehörig sein muss, wenn eine genetisch nachgewiesene zerebrale Insulinresistenz mit einem Singlenukleotid-Transporterpolymorphismus im IRS1- und FTO-Gen vorhanden ist und dadurch eine unabhängige zentrale Insulinresistenz vorliegt (Tschritter, et al., 2006), (Tschritter, et al., 2007).

Der Insulineffekt im Gehirn korrelierte negativ mit dem BMI und dem Körperfettanteil, zeigte dagegen eine positive Korrelation mit der Insulinsensitivität des Glukosestoffwechsels (Tschritter, et al., 2006). In der jetzigen Studie untersuchten wir diese Wechselbeziehung genauer. Wir verwendeten hierfür erneut MEG-Messungen während eines hyperinsulinämischen euglykämischen Clamps und untersuchten bei den gleichen Probanden metabolische Mediatoren der peripheren Insulinresistenz und spezifische Fettdepots, die mit Insulinresistenz vergesellschaftet sind. Dadurch können Gemeinsamkeiten und Unterschiede in der Regulation der peripheren und zerebralen Insulinresistenz beschrieben werden. Die Ergebnisse dieser Studie liefern weitere Grundlagen für zukünftige Untersuchungen von Mechanismen zerebraler Insulinresistenz.

4.2 Diskussion der eigenen Ergebnisse

Unsere Studie untersuchte die Zusammenhänge zwischen zentraler Insulinresistenz im Gehirn bei Adipösen sowie den Einfluss der Fettsäuren auf die periphere und zentrale Insulinresistenz (Glukosestoffwechsel). Insulineffekte lassen sich durch unterschiedliche Messparameter in der MEG-Untersuchung nachweisen. In unseren Untersuchungen haben wir als Parameter der zentralen Insulinresistenz die Beta- und Theta-Aktivität herangezogen. Es war zunächst nicht sicher, welcher dieser beiden Parameter sich besser für diese Studie eignet, auch wenn der Insulineffekt auf die Theta-Aktivität in früheren Studien einen klaren Zusammenhang mit BMI und Körperfettanteil aufwies, während der Insulineffekt auf die Beta-Aktivität stärker mit dem Alter korrelierte (Tschritter, 2009).

4.2.1 Viszerales Fett und Leberfett

Wir untersuchten, ob beide zerebralen Insulineffekte (Beta- und Theta-Aktivität) mit der Menge des viszeralen Fettes und des Leberfettes korrelieren. Hierfür verwendeten wir eine multiple Regression mit Geschlecht und BMI als weitere unabhängige Variablen.

Der Insulineffekt auf die Theta-Aktivität korrelierte negativ mit dem Anteil des viszeralen Fettes und dem Leberfett. Unsere Ergebnisse sprechen dafür, dass ein höherer viszeraler Fettanteil, als auch erhöhtes Leberfett mit einer Insulinresistenz des Gehirns einhergehen. Die durch multiple Regression ermittelten Ergebnisse, sind statistisch unabhängig vom BMI.

Der Insulineffekt auf die Beta-Aktivität zeigte in diesen multiplen Regressionen keine signifikante Korrelation mit viszeralem Fett und Leberfett. Ein direkter Zusammenhang der Insulinwirkung, abhängig von Fett oder Leberfett konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Theta-Aktivität scheint für die Untersuchung der zerebralen Insulinsensitivität (respektive Insulinresistenz) besser geeignet, als die Beta-

Aktivität, da ein direkter Zusammenhang des Insulineffektes auf die Theta-Aktivität mit dem viszeralen Fett und Leberfett gezeigt werden konnte.

Ursächlich könnten beide Parameter eine Insulinresistenz verschiedener funktioneller Einheiten des Gehirns darstellen, die unterschiedlich reguliert sind.

Die negative Korrelation zwischen BMI und insulin-induzierter Theta-Aktivität lässt schlussfolgern, dass Adipositas mit einer verminderten Insulinsensitivität des Gehirns einhergeht. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Effekt hauptsächlich durch erhöhtes viszerales Fett und erhöhtes Leberfett hervorgerufen wird, da das Theta-Frequenzband mit einer Abnahme der zerebralen Antwort auf Insulin einher ging (viszerale Adipositas und Leberverfettung)

Im Gegensatz zu insulin-induzierter Theta-Aktivität konnten wir keinen vergleichbaren Zusammenhang zwischen Körperfett und viszeralem Fett mit der insulin-induzierten Beta-Aktivität herstellen. Dies deckt sich mit einer früheren Publikation, in der gezeigt wurde, dass die Korrelation der insulin-induzierten Beta-Aktivität mit dem BMI durch eine viel stärkere Korrelation mit dem Alter erklärt ist (Tschritter, 2009).

In den weiteren Analysen untersuchten wir, ob Faktoren, die bekanntermaßen bei Adipositas periphere Insulinresistenz verursachen, auch mit Insulineffekten im Gehirn korrelieren.

4.2.2 Die Rolle von Adipozytokinen und Entzündungsmarkern

Um die Zusammenhänge zwischen viszeraler Fettsucht, Leberfett und zerebraler Insulinresistenz genauer zu untersuchen, widmeten wir uns dem Einfluss bekannter Mediatoren in der Pathogenese der peripheren Insulinresistenz, wie den Adipozytokinen (Adiponektin und Leptin), sowie den Entzündungsmarkern Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) und freien Serumfettsäuren (FFAs).

Bei Nagetieren und beim Menschen stehen hohe zirkulierende Leptin-Spiegel in direkter Verbindung mit Adipositas (Considine, et al., 1996). In Experimenten zeigte sich, dass die Gabe von Leptin bei Versuchstieren mit einem Leptin-Mangel zur Reduktion der Nahrungsmittelaufnahme und des Körpergewichts führte (Zhang, et al., 1994), (Pellemounter, et al., 1995). Auf Grund der Kenntnis, dass bestimmte intrazelluläre Signalproteine sowohl in der Signalkaskade von Insulin als auch von Leptin verwendet werden (Niswender, et al., 2003), (Niswender, et al., 2001), könnten erhöhte Leptin-Spiegel die Erklärung für die Ausbildung von Insulinresistenz in bestimmten Geweben, ebenso im Gehirn, sein, (Hennige, et al., 2006). Im Gegensatz dazu, konnte für das Adipozytokin Adiponektin gezeigt werden, dass es die Insulinsensitivität in der Leber und der Skelettmuskulatur verbesserte (Berg, et al., 2001), (Combs, et al., 2001), (Tschritter, et al., 2003), (Stefan, et al., 2003).

Um die Rolle der Entzündungssituation in Gegenwart der zerebralen Insulinresistenz zu erforschen, wählten wir die weißen Blutbestandteile und das C-reaktive Protein als Messinstrumente zur Beurteilung für die allgemeine Entzündungssituation. Ebenso zogen wir diesbezüglich den Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) und das Interleukin-6 (IL-6) heran, die im Blutkreislauf zirkulieren und gezeigt haben, dass sie die Insulinwirkung in peripheren Geweben beeinträchtigen (Bays, et al., 2004), (Hoene, et al., 2008), (Plomgaard, et al., 2005).

Mit multipler Regression untersuchten wir erneut in unserer Auswertung den adipositasunabhängigen (BMI) Zusammenhang zwischen dem Insulineffekt auf die Theta-Aktivität und den Adipozytokinen oder Entzündungsmarkern. Für alle untersuchten Adipozytokine (Adiponektin, Leptin) und Entzündungsmarker (Leukozyten, CRP, TNF- α , IL-6) konnte ein solcher Zusammenhang nicht nachgewiesen werden. Schlussfolgernd sind diese Faktoren keine Mediatoren zerebraler Insulinresistenz und Fettdepots.

Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass weder Leptin, noch Adiponektin, noch Entzündungsmarker, wie sie bei adipösen Personen erhöht vorkommen, eine direkte Verbindung, unabhängig vom Gewicht, zur zerebralen Insulinresistenz haben.

4.2.3 Mitwirkung der gesättigten Fettsäuren bei der zerebralen Insulinresistenz

Die Konzentration der freien Fettsäuren wurde negativ mit dem Insulineffekt auf die Theta-Aktivität korreliert. Diese negative Korrelation bestätigte sich auch in der multiplen Regression und war somit unabhängig vom BMI. Dies bedeutet einerseits, dass erhöhte Konzentrationen mit freien Fettsäuren mit Insulinresistenz des Gehirns einhergehen und andererseits, dass diese auch als Mediator/Mechanismus der Insulinresistenz infrage kommen. Dieser Effekt scheint ausschließlich durch die gesättigten freien Fettsäuren erklärt, während einfach oder mehrfach ungesättigte freie Fettsäuren wohl keinen wesentlichen Effekt haben. Lediglich die Docosatetraensäure zeigte eine signifikante Korrelation. Die Bedeutung dieses Befundes ist jedoch unsicher, da eine Signifikanz nur in der multiplen Regression, nicht jedoch in der univariaten Korrelationsanalyse erreicht wurde. Möglicherweise kann ein Zufallsereignis nicht ausgeschlossen werden.

Aus dem statistischen Zusammenhang kann allerdings nicht zwingend auf die Richtung des Effekts geschlossen werden. Möglich wäre, dass Adipositas primär erhöhte freie Fettsäuren verursacht und diese dann den Insulineffekt auf die Theta-Aktivität einschränken. Theoretisch könnte aber auch die Insulinresistenz im Gehirn erhöhte freie Fettsäuren verursachen, die dann Adipositas begünstigen. In peripheren Geweben wurde allerdings nachgewiesen, dass erhöhte Konzentrationen von freien Fettsäuren Insulinresistenz verursachen.

Da in peripheren Gewebe Insulinresistenz überwiegend durch eine Vermehrung von viszeralem Fett und Leberfett bedingt wird, haben wir neben dem BMI auch viszerales Fett und Leberfett in die multiplen Regressionen aufgenommen.

Dass der Insulineffekt auf die Theta-Aktivität hierbei von der Konzentration der gesättigten freien Fettsäuren abhing und nicht mehr vom viszeralen Fett bzw. Leberfett, bestärkt die Annahme, dass gesättigte freie Fettsäuren als wichtige Mediatoren der Insulinresistenz des Gehirns dienen. Viszerales Fett und Leberfett könnten demnach über erhöhte gesättigte freie Fettsäuren zur Insulinresistenz des Gehirns beitragen (ähnlich wie bei peripherer Insulinresistenz).

Die Ergebnisse legen eine direkte Verbindung zwischen den gesättigten Fettsäuren und der zerebraler Insulinresistenz nahe.

Dieser Zusammenhang gibt einen deutlichen Hinweis darauf, dass gesättigte freie Fettsäuren starke Prädiktoren hinsichtlich der insulinvermittelten Aktivität im Theta-Frequenzband darstellen. Folglich sind erhöhte gesättigte Fettsäurespiegel keine Erscheinung von Fettsucht, wie Leptin, Adiponektin, IL-6 oder TNF- α , sondern fungieren als Mediatoren, die die metabolisch aktiven Fettdepots mit der zerebralen Insulinresistenz verbinden, wie wir in MEG-Messungen bei der insulininduzierten Theta-Aktivität sehen konnten.

4.3 Diskussion der Ergebnisse im Kontext der Literatur

4.3.1 Methodische Aspekte

Magnetoenzephalographie (MEG) und Elektroenzephalographie (EEG) werden als etablierte nicht-invasive Methoden zur Messung der neuronalen Aktivität des Kortex in Ruhe (Spontan-MEG und -EEG) bzw. während einer mentalen Aufgabe (evozierte Felder/Potentiale) eingesetzt (Del Gratta, et al., 2001), (Walden, et al., 1998).

Im Gegensatz zum EEG, welches die elektrischen Felder, die durch die Depolarisation der Zellmembran entstehenden Potentialdifferenzen während neuronaler Aktivität misst, zeigt das MEG die magnetischen Feldveränderungen auf (Banaclocha, 2004), (Konn, et al., 2003).

Die Magnetoenzephalographie (MEG) beschränkt sich bedingt durch die Messmethode selbst auf die Detektion von vor allem in den Sulci erzeugten Magnetfeldern, die auf der Schädeloberfläche erfasst werden können. Im MEG-Versuch wurde zudem in geringerer Auflösung die Aktivität der Gyri durch Anlage eines fünf Elektroden-EEGs mit registriert.

Mit der Magnetoenzephalographie werden die durch die elektrische Aktivität kortikaler Neurone induzierten Magnetfelder mit hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung gemessen (Del Gratta, et al., 2001).

Die physikalischen Eigenschaften des Kopfes führen beim EEG zu einer systematischen Verzerrung der gemessenen elektrischen Oberflächenpotentiale, so dass die elektrischen Felder immer relativ zu einer Referenz bestimmt werden müssen. Beim MEG ist die Beeinflussung der magnetischen Felder vernachlässigbar und die einzelnen Sensoren messen referenzfrei die Aktivität unter einem Sensor.

4.3.2 Adipozytokine und Entzündungsmarker

Obwohl die Zusammenhänge bisher nicht genau bekannt sind, wissen wir, dass das Risiko einen Typ 2 Diabetes mellitus zu entwickeln mit dem Körpergewicht ansteigt. Adipositas gilt hierfür als wesentlicher Risikofaktor. Die durch Adipositas entwickelte Insulinresistenz (Ferrannini, 1998) stellt in diesem Prozess einen entscheidenden pathogenetischen Faktor der Glukosestoffwechselstörung dar. Ein Grund hierfür liegt in der Funktion des Fettgewebes als endokrines und parakrines Organ. Insbesondere viszerales Fett und Leberfett sind an der Pathogenese des Diabetes mellitus und der Arteriosklerose beteiligt (Stefan, et al., 2005). Die bei Adipositas von den

vermehrten und hypertrophierten Fettzellen vermehrt freigesetzten Botenstoffe, sogenannte Adipozytokine, tragen zur Entwicklung einer Insulinresistenz bei. Verschiedene Adipozytokine wurden in den letzten Jahren charakterisiert, zum Beispiel Leptin, Adiponektin (Staiger, et al., 2005). Sie greifen als eine Vielzahl von Mediatoren in die Regulation systemischer und lokaler Prozesse ein. Diese vom Fettgewebe freigesetzten Proteine wirken sich negativ auf den Stoffwechsel peripherer Gewebe aus und können Insulinresistenz in verschiedenen Geweben auslösen (Bloomgarden, 2003). In neueren Studien konnte gezeigt werden, dass Adipozytokine (IL-6, TNF- α) auch potentielle Vermittler einer durch Insulin induzierten Insulinresistenz sind.

Adipositas ist mit hohen Leptin Spiegeln bei Nagetieren und Menschen (Considine, et al., 1996), bei welchen die Leptin Resistenz eine große Rolle spielt, assoziiert. Trotzdem hatte eine Behandlung mit Leptin bei Tieren mit einem Leptinmangel zu einer Abnahme der Nahrungsaufnahme und zu einem Gewichtsverlust geführt (Zhang, et al., 1994), (Pellemounter, et al., 1995). Insulin- und Leptinsignalwege teilen bestimmte intrazelluläre Signalproteinkaskaden (Niswender, et al., 2003), (Niswender, et al., 2001), daher könnte ein erhöhter Leptin Spiegel die Ursache für eine Insulinresistenz in bestimmten Geweben, wie zu Beispiel im Gehirn, sein (Hennige, et al., 2006). Im Gegensatz dazu konnte bereits gezeigt werden, dass das Adipokin Adiponektin die Insulinsensitivität der Leber und der Skelettmuskulatur erhöht (Berg, et al., 2001), (Combs, et al., 2001), (Tschritter, et al., 2003), (Stefan, et al., 2003).

Obwohl Adipokine und Mikroinflammation bekannt dafür sind, eine periphere Insulinsensitivität zu induzieren, konnte unabhängig vom BMI keine Korrelation zwischen der Plasmakonzentration von Adiponektin, Leptin und inflammatorischen Markern sowie des zerebrokorticalen Insulineffektes gezeigt werden. Man kann jedoch nicht sicher ausschließen, dass eine lokale Produktion solcher Moleküle einen Effekt auf die Insulinkaskade im Gehirn hat. Jedoch legt unsere Arbeit nahe, dass diese Moleküle, die eine Insulinresistenz im Gehirn bei adipösen Menschen verursachen, keine zirkulierenden Mediatoren sind.

Hierdurch werden Defekte auf den verschiedenen Ebenen des Insulin-Signaltransduktionsweges bedingt. Ebenso nimmt bei adipösen Menschen die Zahl und die Aktivität der Insulinrezeptoren auf der Oberfläche der Zielzellen ab. Die molekularen Grundlagen dieser Zusammenhänge sind komplex und werden seit Jahren intensiv erforscht.

4.3.3 Freie Fettsäuren

Die allgemeine Fettsucht ist von einem Spiegelanstieg der freien Serumfettsäuren begleitet. In vielen Studien konnte gezeigt werden, dass gesättigte Fettsäuren die Insulinsensitivität durch Störung in der Insulinsignalkaskade herabsetzt (Boden, 1997), (Roden, et al., 1999), (Thiebaud, et al., 1982) und dadurch zu metabolischen Veränderungen und Krankheiten beisteuert, die mit Fettsucht verbunden sind.

Ein wichtiger Faktor für das Ausmaß der Insulinresistenz ist das Überangebot von freien Fettsäuren bei Adipositas. Der erhöhte Zustrom von freien Fettsäuren in insulinabhängige Gewebe führt zu einer Hemmung des intrazellulären Insulinsignalweges.

Der Mechanismus der zentralen Insulinresistenz im Einzelnen ist weitestgehend unbekannt, wie genau die gesättigten freien Serumfettsäuren die Insulinresistenz im Gehirn bedingen. Jedoch gibt es Hinweise, dass fettsäurebindende Proteine bei der Aufnahme von freien Fettsäuren beteiligt (Veerkamp, et al., 2001) und Zelloberflächenrezeptoren wie GPR40 und Toll-like Rezeptoren (TLR) überall im Gehirn vorhanden sind (Ma, et al., 2007), (Nishimura, et al., 2005). Deshalb sind die Auswirkungen von Fettsäuren auf die Insulinfunktionen entweder durch die Aufnahme und die spätere Modulation der intrazellulären Signalkaskaden vermittelt oder durch die Bindung an bestimmte transmembrane Rezeptoren.

Hinsichtlich der Palmitinfettsäure war ein molekularer Mechanismus für periphere Gewebe vorgebracht worden, wobei die gesättigten Fettsäuren

Palmitate/palmitoyl-CoA zu einer intrazellulären Ceramiderhöhung führen und so die AKT inhibieren und NF κ B/I κ B sowie nPKC aktivieren und so schlussendlich eine Insulinresistenz bewirken (Summers, 2006). Während dieser Ceramide abhängige Mechanismus auf Palmitate beschränkt ist, bleibt die molekulare Grundlage für den hemmenden Effekt anderer gesättigter freier Fettsäuren unklar, jedoch besteht mutmaßlich der Verdacht auf eine direkte Aktivierung der NF κ B/I κ B oder nPKC durch Fettsäuren, oder durch freie Fettsäuren selbst, DAG oder FA-CoA (Staiger, et al., 2006).

Als Ergänzung stellt der Signalmechanismus über Oberflächenrezeptoren wie zum Beispiel GPR40 und TLR ein mögliches Bindeglied für langkettige Fettsäuren und verminderte Insulinaktivität dar (Rutter, 2003), (Shi, et al., 2006), (Suganami, et al., 2007). Im Speziellen werden die im Hirngewebe exprimierten TLR2 und TLR4 durch einen Serumgehaltanstieg von gesättigten freien Fettsäuren stimuliert, während ungesättigte freie Fettsäuren eine hemmende Wirkung ausüben (Lee, et al., 2006).

Interessant ist, dass bei Mäusen ein Knock-out Modell des TLR4 sich durch eine Resistenz gegen Diät induzierte Adipositas und begleitende metabolische Stoffwechselveränderungen auszeichnet (Tsukumo, et al., 2007). Zudem konnte bei knock-out Tieren, die eine fettreiche Diät erhielten, eine zunehmende Insulinaktivität in peripheren Geweben sowie ein Schutz vor Herunterregulierung durch gesättigte freie Fettsäuren nachgewiesen werden. Allerdings wurde in dieser Studie nicht die Signalkaskade des Insulins untersucht.

Bei Untersuchungen des ER (endoplasmatisches Retikulum) Stresses konnte ein Regulationsmechanismus aufgezeigt werden, der bei Beta-Zellen zu einer Dysfunktion und in peripheren Geweben zu einer Insulinresistenz führt (Eizirik, et al., 2008). So wie die gesättigten Fettsäuren hinsichtlich ihrer effektiv fördernden Wirkung des ER Stresses aufgedeckt werden konnten, so soll eine mögliche Beteiligung des ER Stresses an der Ausbildung von Insulinresistenz im Hirngewebe Bestandteil zukünftiger Untersuchungen sein.

4.3.4 Limitationen der Studie

Eine Korrelation zwischen freien Fettsäuren und einer zentralen Insulinresistenz beweist noch keine Kausalbeziehung und auch die Richtung eines Effektes wird nicht vorgegeben. Um Kausalbeziehungen zu untersuchen, können insbesondere tierexperimentelle Studien hinsichtlich der Signalkaskade verwendet werden. Sinnvoll wäre auch, wenn in langfristigen prospektiven Studien untersucht würde, ob zerebrale Insulinresistenz mit einer Zunahme von peripherer Insulinresistenz oder einer langfristig erhöhten Diabetesinzidenz einhergeht.

4.3.5 Möglichkeiten und Grenzen der Methode

Als aussagekräftige Methode in der objektiven Messung funktioneller neurophysiologischer Parameter wählten wir die Magnetoenzephalographie (MEG). Die Magnetoenzephalographie (MEG) bietet eine hohe räumliche und zeitliche Auflösung und hat bereits in vorangegangenen Studien gezeigt, dass sich hiermit die Quantifizierung der Insulinwirkung am zentralen Nervensystem ermitteln lässt. Desweiteren ist es technisch möglich, sowohl die Magnetoenzephalographie, als auch den euglykämischer hyperinsulinämischer Clamp in einem Untersuchungsprotokoll zu vereinen.

Allerdings bleibt für die Messmethode tiefer liegender Hirnregionen, wie zum Beispiel der Hypothalamus, welcher bei der Regulation des Appetits eine Rolle spielt, nicht direkt zugänglich, da das MEG die Aktivierung sensornaher Hirngebiete primär misst.

Jedoch ist davon auszugehen, dass tiefer gelegene Hirnregionen auch auf der Hirnrinde repräsentiert sind und wahrscheinlich ein indirektes Signal produzieren.

So konnte Karhunen zeigen, dass es bei Adipösen nach Präsentation von realen Speisen im Vergleich zu neutralen Bildern zu einer Veränderung des

regionalen Blutflusses und somit zu einer Aktivitätsveränderung in kortikalen und subkortikalen Strukturen kommt (Karhunen, et al., 1997), (Karhunen, et al., 2000).

Direkte kortikale Effekte erscheinen durchaus plausibel, da Havrankova und Hopkins eine hohe Insulinrezeptordichte in kortikalen Regionen nachweisen konnten (Havrankova, et al., 1978), (Hopkins, et al., 1997).

Mit Hilfe von anderen Methoden, die funktionelle Messungen in tiefer gelegenen Hirnregionen ermöglichen, zum Beispiel des Hypothalamus, könnten eventuell weitere Aspekte der Insulinwirkung im Gehirn untersucht werden. Hierfür wären zum Beispiel als nichtinvasive Untersuchungsmethoden das MRT und das PET zu nennen, um unsere Ergebnisse, die wir bereits mittels MEG für kortikale Parameter untersucht haben, zu bestätigen.

4.4 Schlussfolgerung

Als Ergebnis unserer Untersuchung lässt sich sagen, dass hohe Serumspiegel von gesättigten freien Fettsäuren (FFAs) mit einer Abnahme der Insulinvermittelten Theta-Aktivität verbunden sind, während andere Adipositas-assoziiierende Faktoren, die periphere Insulinresistenz verursachen, nicht mit einer Abschwächung des zerebralen Insulineffektes einhergehen.

Da aus den multiplen Regressionen keine Kausalität abgeleitet werden kann, müssen mehrere Möglichkeiten in Betracht gezogen werden.

Denkbar wäre, dass die bei Adipositas erhöhten gesättigten Fettsäuren die Entwicklung einer zerebrokortikalen Insulinresistenz begünstigen und somit zu weiteren Störungen der Energiehomöostase und des Glukosestoffwechsels führen. Hier könnte eine pharmakologische Intervention, welche die ungünstigen Wirkungen der Fettsäuren unterbindet über ein verbessertes Insulinsignal im Gehirn positive Effekte hervorrufen.

Eine andere mögliche Interpretation wäre, dass eine Insulinresistenz im Gehirn zu hohen Spiegeln an gesättigten freien Fettsäuren führt, die wiederum ungünstige Wirkungen auf periphere Insulinresistenz und Glukosestoffwechsel ausüben. Hierbei wäre die Verbesserung des Insulineffektes im Gehirn ein interessanter Angriffspunkt für die Therapie/Prävention von Adipositas und Diabetes.

Unsere Ergebnisse sprechen jedenfalls gegen einen direkten Zusammenhang zwischen Insulinresistenz im Gehirn und Adipozytokine oder Inflammationsmarker. Diese Ergebnisse legen deutliche Unterschiede zwischen Mechanismen von peripherer Insulinresistenz und Insulinresistenz im Gehirn nahe.

5. Tabellen

Tabelle 1: Probandencharakteristik

	M ± SD
N	49
Geschlecht (M/F)	25/24
Alter (Jahre)	34 ± 2
BMI (kg/m ²)	27.4 ± 0.7
Waist-to-hip-ratio	0.82 ± 0.01
Nüchternblutzucker (mmol/L)	4.9 ± 0.1
120 min Blutzucker (mmol/L)*	6.2 ± 0.2
Nüchternplasmainsulin (pmol/L)	56 ± 5
120 min Plasmainsulin (pmol/L)*	430 ± 51

M = Mittelwert

SD = Standardabweichung

N = Anzahl

Tabelle 2: Korrelation von Insulin induzierter Theta-Aktivität und Faktoren der der Vermittlung von peripherer Insulin Resistenz

	r	p	p adj. *
Leptin (ng/mL)	-0.32	0.028	0.93
Adiponectin (µg/mL)	0.29	0.042	0.32
weißer Blutbestandteil (n/µL)	-0.35	0.019	0.090
hsCRP (mg/dL)	0.15	0.33	0.42
TNF-α (pg/mL)	-0.002	0.99	0.56
IL-6 (pg/mL)	-0.25	0.081	0.20
Gesamt FFA (µmol/L)	-0.30	0.034	0.064
Ungesättigte FFA (µmol/L)	-0.24	0.10	0.14
Gesättigte FFA (µmol/L)	-0.37	0.009	0.025

* p-Wert aus multipler Regression, somit für Einfluss von BMI bereinigt; bei Adiponektin und Leptin für Einfluss von BMI und Geschlecht bereinigt

Tabelle 3: Korrelation von insulinvermittelter Theta-Aktivität und schnellen freien Fettsäurekonzentrationen

Fettsäure (µmol/L)	Struktur	r	p	p adj.*
Myristinsäure	C14:0	-0.35	0.013	0.024
Pentadecansäure	C15:0	-0.37	0.008	0.030
Palmitinsäure	C16:0	-0.35	0.012	0.033
Stearinsäure	C18:0	-0.36	0.010	0.038
<i>Gesättigte Fettsäuren</i>	<i>Summe</i>	<i>-0.37</i>	<i>0.009</i>	<i>0.025</i>
Palmitoleinsäure	C16:1 N7	-0.22	0.14	0.13
Ölsäure	C18:1 N9	-0.23	0.11	0.17
Octadecensäure	C18:1 N7	-0.25	0.079	0.13
Linolsäuren	C18:2 N6	-0.22	0.12	0.11
Alpha-linolensäure	C18:3 N3	-0.20	0.17	0.26
Arachidonsäure	C20:4 N6	-0.24	0.099	0.13
Eicosapentaensäure (n=20)	C20:5 N3	-0.14	0.56	0.30
Docosatetraensäure	C22:4 N6	-0.27	0.060	0.018
Docosapentaensäure	C22:5 N3	-0.39	0.006	0.27
Docosahexaensäure	C22:6 N3	-0.11	0.45	0.32
<i>Ungesättigte Fettsäuren</i>	<i>Summe</i>	<i>-0.24</i>	<i>0.10</i>	<i>0.14</i>

* p-Wert aus multipler Regression, somit für BMI-Einfluss bereinigt

6. Zusammenfassung

Die Insulinaktivität im Gehirn wird durch einen erhöhten freien gesättigten Fettsäuregehalt vermindert. Jedoch konnte keine Korrelation der gut bekannten Mediatoren der peripheren Insulinresistenz, wie Leptin, IL-6 und TNF- α , durch einen verminderten Insulineffekt auf die Theta-Aktivität nachgewiesen werden. Daher ist davon auszugehen, dass freie gesättigte Fettsäuren aus den metabolisch aktiven Fettdepots der Peripherie eine verminderte Insulinaktivität im Gehirn erzeugen.

Insulinresistenz im Gehirn scheint im Tierexperiment ein wichtiger Faktor in der Pathogenese von Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 zu sein. Beim Menschen lassen sich Insulineffekte im zerebralen Kortex mittels Magnetoenzephalographie messen. Frühere Studien ergaben, dass bei übergewichtigen und adipösen Menschen der zerebrokortikale Insulineffekt vermindert, das Gehirn also „insulinresistent“ ist. Die einzelnen Mechanismen, die Adipositas mit zerebraler Insulinresistenz verbinden, bzw. periphere und zerebrokortikale Insulinresistenz verbinden, sind jedoch nicht bekannt. Dagegen sind einige Faktoren bekannt, die bei adipösen Menschen (und Tieren) zur Entwicklung von peripherer Insulinresistenz beitragen. Diese kommen auch als mögliche Verursacher einer zerebrokortikalen Insulinresistenz in Frage und wurden in dieser Studie weiter untersucht.

In dieser Studie bedienten wir uns deshalb einer etablierten Methode, welche die Magnetoenzephalographie mit dem hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp verbindet, um zu untersuchen, ob viszerale Adipositas, Leberfett, erhöhte Inflammationsmarker, Adipozytokine oder hohe Serumspiegel von gesättigten freien Fettsäuren mit einem verminderten Effekt von Insulin am zerebralen Kortex, also mit „Insulinresistenz“ des Gehirns assoziiert sind. Die viszerale Adipositas und das Leberfett wurden mit Magnetresonanztomographie, resp. Magnetresonanzspektroskopie gemessen. Unsere Studie zeigte, dass zerebrokortikale Insulinresistenz mit erhöhtem viszeralen Fett und Leberfett einhergeht, sowie mit erhöhten Serumspiegeln

von gesättigten freien Fettsäuren. Dagegen zeigte sich kein Zusammenhang zwischen zerebrokortikaler Insulinresistenz und Adipozytokinen oder Inflammationsmarker.

Insulinresistenz im Gehirn ist demnach mit gesättigten freien Fettsäuren und viszeralem Fett, sowie Leberfett assoziiert. Im Gegensatz zur peripheren Insulinresistenz besteht jedoch kein Zusammenhang von zerebrokortikaler Insulinresistenz und Adipozytokinen oder Inflammationsmarkern. Periphere und zerebrokortikale Insulinresistenz werden also durch unterschiedliche Mechanismen beeinflusst. Auch wenn noch keine Kausalität abgeleitet werden kann, so könnte doch die Insulinwirkung im Gehirn einen interessanten Angriffspunkt für Therapie und/oder präventive Maßnahmen gegen Diabetes mellitus Typ 2 zu eröffnen. Hierbei spielen möglicherweise die gesättigten freien Fettsäuren und deren Wirkungsmechanismus eine besondere Rolle.

7. Anhang

Berechnungsformeln:

Body-Mass-Index:

$$\text{BMI} = \text{KG} / \text{l}^2$$

KG= Körpergewicht (kg)

l= Körperlänge (m)

Insulinsensitivitäts-Index:

$$\text{ISI} = \text{GIR} / \text{PI}$$

GIR= Glukoseinfusionsrate (mg/kg/min)

PI= Plasmainsulin (pmol/l)

Waist-to-hip-ratio:

$$\text{WHR} = \text{T} / \text{H}$$

T= Taille (cm)

H= Hüfte (cm)

8. Literaturverzeichnis

Banaclocha, MA. 2004. Architectural organisation of neuronal activity-associated magnetic fields: a hypothesis for memory. *Med Hypotheses* 63(3). 2004, S. 481-484.

Baskin, DG, et al. 1987. Insulin in the brain. *Annu Rev Psychol.* 1987, 49, S. 334-347.

Bays, H, Mandarino, L und DeFronzo, RA. 2004. Role of the adipocyte, free fatty acids, and ectopic fat in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: peroxisomal proliferator-activated receptor agonists provide a rational therapeutic approach. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 2004, 89, S. 463-478.

Berg, AH, et al. 2001. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat.Med.* 2001, 7, S. 947-953.

Bloomgarden, ZT. 2003. 416. Inflammation and insulin resistance. *Diabetes Care.* Jun 2003, 26(6), S. 1922-6.

Boden, G. 1997. Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes.* 1997, 46, S. 3-10.

Bruning, JC, et al. 1998. A muscle-specific insulin receptor knockout exhibits features of the metabolic syndrome of NIDDM without altering glucose tolerance. *Mol Cell.* 1998, 5, S. 559-69.

Bruning, JC, et al. 1997. Development of a novel polygenic model of NIDDM in mice heterozygous for IR and IRS-1 null alleles. *Cell.* 1997, Bd. 88, 4, S. 561-572.

Bruning, JC, et al. 2000. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science.* 2000, 289, S. 2122-2125.

Combs, TP, et al. 2001. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin.Invest.* 2001, 108, S. 1875-1881.

Considine, RV, et al. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N.Engl.J.Med.* 1996, 334, S. 292-295.

DeFronzo, RA, Simonson, D und Ferrannini, E. 1983. Hepatic and peripheral insulin resistance: a common feature of type II (non-insulin-dependent) and type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1983, 23, S. 313-318.

- Del Gratta, C, et al. 2001.** Magneten-cephalography- a noninvasive brain imaging method with 1 ms time resolution. *Rep Prog Phys* 64. 2001, S. 1759-1814.
- Eizirik, DL, Cardozo, AK und Cnop, M. 2008.** The role for endoplasmatic reticulum stress in diabetes mellitus. *Endocr.Rev.* 2008, 29, S. 42-61.
- Ferrannini, D, et al. 1985.** Effect of insulin on the distribution and disposition of glucose in man. *J.Clin.Invest.* 1985, 76, S. 357-364.
- Ferrannini, E. 1998.** Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: problems and prospects. *Endocr Rev.* Aug. 1998, 19(4), S. 477-490.
- Ferrannini, E und Mari, A. 1998.** How to measure insulin sensitivity. *J Hypertens.* 1998, 16, S. 895-906.
- Freychet, P. 2000.** Insulin receptors and insulin actions in the nervous system. *Diabetes Metab Res Rev* 16. 2000, S. 390-392.
- Guthoff, M, et al. 2010.** Insulin modulates food-related activity in the central nervous system. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010, Bd. 95, 2, S. 748-755.
- Havrankova, J, Roth, J und Brownstein, M. 1978.** Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature.* 1978, 272, S. 827-829.
- Hennige, AM, et al. 2006.** Leptin down-regulates insulin action through phosphorylation of serine-318 in insulin receptor substrate 1. *FASEB J.* 2006, 20, S. 1206-1208.
- Hoene, M und Weigert, C. 2008.** The role of interleukin-6 in insulin resistance, body fat distribution and energy balance. *Obes.Rev.* 2008, 9, S. 20-29.
- Hopkins, DF und Williams, G. 1997.** Insulin receptors are widely distributed in human brain and bind human and porcine insulin with equal affinity. *Diab Med.* 1997, 14, S. 1044-1050.
- Karhunen, LJ, et al. 2000.** Regional cerebral blood flow during exposure to food in obese binge eating women. *Psychiatry Res.* 2000, 99 (1), S. 29-42.
- Karhunen, LJ, et al. 1997.** Regional cerebral blood flow during food exposure in obese and normal-weight women. *Brain.* 1997, Bd. 120, S. 1675-1684.

Katsuki, A, et al. 2003. Increased visceral fat and serum levels of triglyceride are associated with insulin resistance in Japanese metabolically obese, normal weight subjects with normal glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2003, 26, S. 2341-2344.

Kelley, DE, et al. 2003. Fatty liver in type 2 diabetes mellitus: relation to regional adiposity, fatty acids, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003, 285, S. E906-E916.

Konn, D, Gowland, P und Bowtel, R. 2003. MRI detection of weak magnetic fields due to an extended current dipole in a conducting sphere: a model for direct detection of neuronal currents in the brain. *Magn Reson Med* 50(1). 2003, S. 40-49.

Kulkarni, RN, et al. 1999. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell*. 1999, Bd. 96, 3, S. 329-339.

Lee, JY und Hwang, DH. 2006. The modulation of inflammatory gene expression by lipids: mediation through Toll-like receptors. *Mol. Cells*. 2006, 21, S. 174-185.

Leibson, CL, et al. 1997. Risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study. *Am J Epidemiol*. 1997, 145, S. 301-308.

Lepage, G und Roy, CC. 1986. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *J. Lipid Res*. 1986, 27, S. 114-120.

Lutzenberger, W, et al. 2002. Dynamics of gamma-band activity during an audiospatial working memory task in humans. *J Neurosci*. 2002, 22, S. 5630-5638.

Ma, D, et al. 2007. Expression of free fatty acid receptor GPR40 in the central nervous system of adult monkeys. *Neurosci. Res*. 2007, 58, S. 394-401.

Machmann, J, et al. 2005. Standardized assessment of whole body adipose tissue topography by MRI. *J. Magn Reson. Imaging*. 2005, 21, S. 455-462.

Matthaei, S. 2000. *Endocr Rev*. 2000, 21.(6), S. 585-618.

McGuire, EA, et al. 1976. Effects of arterial versus venous sampling on analysis of glucose kinetics in man. *J Appl Physiol* 41. 1976, S. 565-573.

- Näätänen, R. 1991.** Mismatch negativity outside strong attentional focus: a commentary on Woldorff et al. *Psychophysiology*. 1991, 28, S. 478-484.
- **1995.** The mismatch negativity: a powerful tool for cognitive neuroscience. *Ear Hear*. 1995, 16, S. 6-18.
- **2001.** The perception of speech sounds by the human brain as reflected by the mismatch negativity (MMN) and its magnetic equivalent (MMNm). *Psychophysiology*. 2001, 38, S. 1-21.
- Nishimura, M und Naito, S. 2005.** Tissue-specific mRNA expression profiles of human toll-like receptors and related genes. *Biol.Pharm.Bull.* 2005, 28, S. 886-892.
- Niswender, KD, et al. 2003.** Insulin activation of phosphatidylinositol 3-kinase in the hypothalamic arcuate nucleus: a key mediator of insulin-induced anorexia. *Diabetes*. 2003, 52, S. 227-231.
- Niswender, KD, et al. 2001.** Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*. 2001, 413, S. 794-795.
- Obici, S, et al. 2002.** Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nat.Neurosci.* 2002, 5, S. 6-572.
- Obici, S, et al. 2002.** Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat.Med.* 2002, 8, S. 1376-1382.
- Ott, A, et al. 1996.** Association of diabetes mellitus and dementia: the Rotterdam Study. *Diabetologia*. 1996, 39, S. 1392-1397.
- Pellegrino, MA, et al. 1995.** Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 1995, 269, S. 540-543.
- Plomgaard, P, et al. 2005.** Tumor necrosis factor-alpha induces skeletal muscle insulin resistance in healthy human subjects via inhibition of Akt substrate 160 phosphorylation. *Diabetes*. 2005, 54, S. 2939-2945.
- Pollock, V, et al. 1979.** Profile of Mood States: the factors and their physiological correlates. *J Nerv Ment Dis*. 1979, 167, S. 612-614.
- Roden, M, et al. 1999.** Rapid impairment of skeletal muscle glucose transport/phosphorylation by free fatty acids in humans. *Diabetes*. 1999, 48, S. 358-364.

Rutter, GA. 2003. Insulin secretion: fatty acid signalling via serpentine receptors. *Curr.Biol.* 2003, 13, S. R403-R405.

Schwartz, MW, et al. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature.* 2000, 404, S. 661-671.

Schwartz, MW, et al. 1992. Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance. *Endocr Rev.* 1992, 13, S. 387-413.

Seppala-Lindroos, A, et al. 2002. Fat accumulation in the liver is associated with defects in insulin suppression of glucose production and serum free fatty acids independent of obesity in normal men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002, 87, S. 3023-3028.

Shi, H, et al. 2006. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J.Clin.Invest.* 2006, 116, S. 3015-3025.

Staiger, H und Häring, HU. 2005. Adipocytokines: fat-derived humoral mediators of metabolic homeostasis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* Feb 2005, 113(2), S. 67-79.

Staiger, K, et al. 2006. Saturated, but not unsaturated, fatty acids induce apoptosis of human coronary artery endothelial cells via nuclear factor-kappaB activation. *Diabetes.* 2006, 55, S. 3121-3126.

Stefan, N, et al. 2005. New imaging techniques of fat, muscle and liver within the context of determining insulin sensitivity. *Horm Res.* 2005, 64 Suppl 3, S. 38-44.

Stefan, N, et al. 2003. Plasma adiponectin and endogenous glucose production in humans. *Diabetes Care.* 2003, 26, S. 3315-3319.

Stummvoll, M. 2002. Was ist Insulinresistenz und wie kann man diese behandeln? *Presseinformation zur 37. Jahrestagung der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG).* Mai 2002.

Suganami, T, et al. 2007. Role of the Toll-like receptor 4/NF-kappaB pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2007, 27, S. 84-91.

Summers, SA. 2006. Ceramides in insulin resistance and lipotoxicity. *Prog.Lipid Res.* 2006, 45, S. 42-72.

Thiebaud, D, et al. 1982. Effect of long chain triglyceride infusion on glucose metabolism in man. *Metabolism*. 1982, 31, S. 1128-1136.

Tschritter, O, et al. 2003. Assessing the shape of the glucose curve during an oral glucose tolerance test. *Diabetes Care* 26. 2003, S. 1026-1033.

Tschritter, O, et al. 2003. Plasma adiponectin concentrations predict insulin sensitivity of both glucose and lipid metabolism. *Diabetes*. 2003, 52, S. 239-243.

Tschritter, O, et al. 2006. The cerebrocortical response to hyperinsulinemia is reduced in overweight humans: A magnetoencephalographic study. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2006, 103, S. 12103-12108.

Tschritter, O, et al. 2006. The cerebrocortical response to hyperinsulinemia is reduced in overweight humans: A magnetoencephalographic study. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 2006, 103, S. 12103-12108.

Tschritter, O, et al. 2007. Variation in the FTO gene locus is associated with cerebrocortical insulin resistance in humans. *Diabetologia*. 2007, 50, S. 2602-2603.

Tschritter, Otto. 2009. *Diabetologia*. 2009, 52, S. 169-171.

Tsukumo, DM, et al. 2007. Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007, 56, S. 1986-1998.

Unger, JW, Livingston, JN und Moss, AM. 1991. Insulin receptors in the central nervous system: localisation, signalling mechanisms and functional aspects. *Prog Neurobiol*. 1991, 36, S. 343-362.

Van Houten, M und Posner, BI. 1983. Circumventricular organs: receptors and mediators of direct peptide hormone action on brain. *Adv Metab Disord*. 1983, 10, S. 269-289.

Veerkamp, JH und Zimmerman, AW. 2001. Fatty acid-binding proteins of nervous tissue. *J.Mol.Neurosci*. 2001, 16, S. 133-142.

Wagenknecht, LE, et al. 2003. Insulin sensitivity, insulin secretion, and abdominal fat: the insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) Family Study. *Diabetes*. 2003, 52, S. 2490-2496.

Walden, J, Heßlinger, B und Stieglitz, RD. 1998. EEG. [Buchverf.] M Berger. *Psychiatrie und Psychotherapie*. 1. Auflage. München, Wien, Baltimore : Urban & Schwarzenberg, 1998, S. 64-70.

Watson, GS, et al. 2003. Insulin increases CSF Abeta42 levels in normal older adults. *Neurology* 60. 2003, S. 1899-1903.

Weyer-C, et al. 1999. *J Clin Invest*. 1999.

Zhang, Y, et al. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994, 372, S. 425-432.

9. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. med. Andreas Fritsche (Lehrstuhlinhaber für Ernährungsmedizin und Prävention, Diabetologie am Universitätsklinikum der Eberhard Karls Universität Tübingen) und Priv.-Doz. Dr. med. Otto Tschritter (Leitender Oberarzt der interdisziplinären Notaufnahme im Marienhospital Stuttgart).

Sämtliche Versuche wurden nach Einarbeitung durch die Labormitglieder Frau A. Teigeler und Frau H. Lutz von mir in Zusammenarbeit mit den oben genannten durchgeführt.

Die Methode der MRT-Bildgebung wurde durch die Radiologische Klinik des Universitätsklinikum der Eberhard Karls Universität Tübingen durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Priv.-Doz. Dr. med. Otto Tschritter durchgeführt.

Ich versichere, das Manuskript selbständig nach Anleitung durch Priv.-Doz. Dr. med. Otto Tschritter verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

10. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. A. Fritsche für die unkomplizierte und äußerst kompetente Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Dr. med. O. Tschritter möchte ich dafür danken, dass er mir jederzeit mit ausgezeichnetem Sachverstand unterstützend zur Seite stand.

Besonderer Dank gilt auch Frau A. Teigeler und Frau H. Lutz für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Experimente. Ihr Engagement war eine große Hilfe für mich.

Vielen Dank auch an alle Probanden für ihre Bereitschaft, an den Experimenten teilzunehmen.

11. Lebenslauf

Name: Stephan Düsing
Geboren: am 26.08.1982 in Halle/Saale
Eltern: Dr. med. Petra Schulz, geb. Giebler
Dr. med. Rüdiger Düsing
Familienstand: ledig

Schulbildung:

1989 – 1992 Grundschule Dorothea-Erxleben in Halle/Saale
1992 – 1993 Martinsschule in Bamberg
1993 – 2002 Kaiser-Heinrich-Gymnasium in Bamberg
Juli 2002 Abitur (Note 2,5)

Hochschulausbildung:

Okt. 2003 Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Eberhard Karls Universität in Tübingen
Sep. 2005 Ärztliche Vorprüfung (Note „gut“)
Okt.-Nov. 2. Abschnitt der Ärztliche Prüfung (Note „gut“)
2009

Ärztliche Tätigkeit (Weiterbildung zum Facharzt für Neurochirurgie):

Jan. 2010 – Klinik für Neurochirurgie am Universitätsklinikum Marburg
März 2014
Sep. 2014 – Klinik für Neurochirurgie am Diakonie Jung-Stilling-Krankenhaus in Siegen