

1 Einleitung

1.1 Euglykämie

Als euglykämische Stoffwechsellage beim Menschen werden Plasma-Glukosekonzentrationen bis zu 100mg/dl, entsprechend 5,6mmol/l, bezeichnet. Dies gilt für Nüchtern-Werte, wobei nüchtern bedeutet, dass über mindestens 8 Stunden keine Kalorienaufnahme erfolgte. Im Plasma werden höhere Werte gemessen als im Vollblut, da die Erythrozyten weniger Glukose enthalten als das Plasma. Die Differenz beträgt 10-15% und ist u.a. abhängig vom Anteil der Erythrozyten in der Blutprobe. Der Normwert für Vollblutglukose liegt nüchtern unter 90mg/dl (5,0mmol/l).^{1,2}

Um eine Euglykämie aufrechtzuerhalten, bedarf es mehrerer Regulationsmechanismen. Während Insulin eine blutzuckersenkende Wirkung besitzt, besitzen Glukagon, Epinephrin und Cortisol eine blutzuckersteigernde Wirkung. Plasmaglukose hat einen direkten Effekt auf den Pankreas. Während einer Hyperglykämie kommt es zu einem Anstieg der Insulinsekretion und zu einem Abfall der Glukagonsekretion. Im Gegensatz dazu kommt es während einer Hypoglykämie zu einem Absinken des Insulins und zu einer Steigerung des Glukagons. Glukagon stimuliert die Glukoseproduktion. Insulin unterdrückt die Glukoseproduktion in der Leber und steigert die Glukoseaufnahme im Fett- und Muskelgewebe. Die Glukoseaufnahme in das Gehirn ist nicht insulinabhängig.³

Die Glukosebereitstellung hängt von zwei Stoffwechselwegen ab, von der Glykogenolyse und der Gluconeogenese. Nach einer nächtlichen Nüchternperiode entstehen 36% der hepatischen Glukoseproduktion durch Glykogenolyse.⁴

Eine Störung der komplexen Regulationsmechanismen führt z.B. zum Diabetes mellitus. Der Diabetes mellitus ist definiert als eine durch den Leitbefund chronische Hyperglykämie charakterisierte Regulationsstörung des Stoffwechsels. Es liegt entweder eine gestörte Insulinsekretion oder eine verminderte Insulinwirkung oder beides zugrunde.¹

Abhängig von der Klassifikation des Diabetes mellitus kommen unterschiedliche medikamentöse Therapien zum Einsatz. Bei antidiabetischen Medikamenten, wie Insulin oder Sulfonylharnstoffen, stellt die Hypoglykämie einen bedeutenden limitierenden Faktor für die Behandlung des Diabetes mellitus dar.⁵ Weil Glukose das

Hauptsubstrat für das Gehirn darstellt und das Gehirn Glukose weder synthetisieren kann, noch die Glukoseaufnahme aus dem Blut schnell erhöhen kann, ist die Prävention und Korrektur einer Hypoglykämie überlebenswichtig.

1.2 Hypoglykämie

Ein verbindlicher Blutglukose-Spiegel als Definitionsmerkmal für Hypoglykämien existiert nicht. Für Nichtdiabetiker wird eine Hypoglykämie definiert als ein Blutglukose-Spiegel unter 50mg/dl bei gleichzeitigem Auftreten von Hypoglykämiesymptomen oder als Blutglukose-Spiegel unter 40mg/dl auch ohne bestehende Symptome. Für Personen mit Diabetes mellitus ist diese Definition nicht anwendbar.⁶ Blutglukose-Schwellen für Hypoglykämiesymptome sind variabel und verändern sich in Abhängigkeit der Dauer von hyper- oder hypoglykämischen Episoden.⁷ So können bei hoher Blutglukose-Einstellung Hypoglykämiesymptome bei Blutglukosewerten von 100mg/dl auftreten, während Patienten mit niedriger Blutglukose-Einstellung selbst bei Blutglukosewerten von 30mg/dl keine Symptome wahrnehmen.⁶

Symptome der Hypoglykämie sind einerseits Zeichen der hormonellen Gegenregulation, andererseits Zeichen der Minderperfusion des Gehirns mit Glukose. Folgende Symptome sind typisch für eine Hypoglykämie: vermehrtes Schwitzen, Blässe, Zitterigkeit, Unruhe, Sehstörungen, Hungergefühl, Konzentrationsstörungen, Schwächegefühl, Herzklopfen und taubes Gefühl an Mund, Beinen oder Händen. Unbehandelt führt eine Hypoglykämie zu Krampfanfällen, Bewusstlosigkeit und Tod. Nicht alle Symptome treten gleichzeitig auf, und die Symptome sind individuell sehr verschieden.⁶ Um Schwellenwerte für das Auftreten der einzelnen Symptome sowie den Beginn der Gegenregulation zu ermitteln, wurden Studien durchgeführt, die das Prinzip des glykämischen Clamps nutzen. Mitrakou et al. arbeiteten mit der Technik des hyperinsulinären Glukoseclamps, wobei bei kontinuierlicher intravenöser Insulininfusion ein schrittweises Absinken der Plasmaglukosewerte von 100 auf 42mg/dl erreicht wurde. Die Plasmaglukosekonzentration sank maximal um 12mg/dl während 45min, und eine stabile Phase von 45min wurde vor einem erneuten Absinken der Glukosekonzentration eingehalten. Im Ergebnis konnte festgestellt werden, dass ein Anstieg der gegenregulatorischen Hormone bei höheren Plasmaglukosekonzentrationen auftrat als der Beginn hypoglykämischer Symptome.⁸ Die Glukoseschwelle für die

Sekretion von Epinephrin liegt bei 68 bzw. 69mg/dl und für die Sekretion von Cortisol bei 56 bzw. 58mg/dl.^{8,9}

Die Glukoseschwelle für eine Epinephrinfreisetzung entspricht annähernd dem Plasmaglukosewert (67mg/dl), bei dem eine messbare Reduktion der Glukoseaufnahme in das Gehirn gesunder Probanden auftritt.¹⁰ Mit der Technik des hyperinsulinämischen Glukoseclamps ermittelten Mitrakou et al. einen höheren Glukoseschwellenwert (58 ± 2 mg/dl) für das Auftreten von neurogenen bzw. autonomen Symptomen, wie Angst, Herzklopfen, Schwitzen und Tremor, als für das Auftreten von neuroglykopenischen Symptomen (51 ± 3 mg/dl), wie Schwindel, Sehstörungen, Konzentrationsstörungen und Schwächegefühl. Kognitive Dysfunktionen treten bei Werten von 49 ± 2 mg/dl auf.⁹ Diese Schwellenwerte sind eher dynamisch als statisch. Sie differieren in Abhängigkeit vorhergehender Änderungen der Blutglukose.¹¹

In dem System der Glukose regulierenden Faktoren stellt Insulin das Blutzucker senkende Hormon dar. Es supprimiert die hepatische Glukoseproduktion und stimuliert die Glukoseaufnahme in die Gewebe, u.a. in die Skelettmuskulatur.

Zum System der Blutzucker steigernden Faktoren gehören Hormone, Neurotransmitter sowie Stoffwechselprodukte. Das Hormon Glukagon ist die potenteste blutzuckersteigernde Substanz. Das vom Nebennierenmark sezernierte Hormon Epinephrin besitzt ebenfalls eine Blutzucker steigernde Wirkung und ist zusammen mit Glukagon für eine Antwort innerhalb von Minuten verantwortlich. Die bei fallenden Glukosespiegeln sezernierten Hormone Cortisol und Wachstumshormon wirken verzögert, innerhalb von Stunden. Zusätzlich werden das sympathische und parasympathische Nervensystem mit ihren Transmittern Norepinephrin und Acetylcholin bei fallenden Blutglukosespiegeln aktiviert. Unter den Stoffwechselprodukten beeinflussen Glukose sowie freie ungesättigte Fettsäuren die Glukoseaufnahme und -produktion.⁷

Cryer beschreibt ein Hierarchiemodell der Glukose regulierenden Faktoren im Falle einer Hypoglykämie. Eine sinkende Insulinsekretion ist der wichtigste Faktor, gefolgt von einem Anstieg des Glukagonspiegel. Beim Versagen der Glukagonantwort setzt die Wirkung von Epinephrin ein. Tiefer in der Hierarchie der regulierenden Faktoren stehen das Wachstumshormon und Cortisol, die Autoregulation von Glukose sowie der Einfluss anderer Hormone, Neurotransmitter oder Stoffwechselprodukte.¹²

1.3 Cortisol

Cortisol kommt im Plasma in drei Formen vor: freies Cortisol, proteingebundenes Cortisol und Cortisol-Metabolite. Zirka 5-10% des zirkulierenden Cortisols befinden sich in der freien Form. Nur der freie Anteil von Cortisol bindet an den Rezeptoren der Zielzellen und ist somit hormonwirksam.¹³ Die Sekretion von Cortisol erfolgt in einer zirkadianen Rhythmik. Die Sekretion ist in den frühen Morgenstunden am stärksten und reduziert sich während des Tages. Die niedrigsten Cortisolwerte im Plasma sind um Mitternacht zu erwarten. Der Referenzbereich kann daher nur für eine definierte Tageszeit angegeben werden. Die episodische Sekretion bedingt darüber hinaus eine große Streubreite. Der Plasmaspiegel für Erwachsene beträgt um 8.00 Uhr 5-25µg/dl (0,14-0,69µmol/l). Um 24.00 Uhr liegen die Referenzwerte für Erwachsene zwischen 0-5µg/dl (0-0,14µmol/l).¹⁴

Glukokortikoide führen zu unterschiedlichen Wirkungen im Bereich des Immunsystems. Sie modulieren die Immunantwort. Zu unterscheiden sind die antiphlogistischen Effekte in der Frühphase der Entzündungsreaktion und Wirkungen in der Spätphase der Immunantwort. Glukokortikoide wirken überwiegend entzündungshemmend, weniger immunsuppressiv. Die antiphlogistischen Wirkungen treten bereits im niedrigen Dosisbereich auf, die immunsuppressiven Wirkungen setzen erst bei höheren Dosierungen ein. Glukokortikoide beeinflussen immunkompetente Zellen. Sie führen zu einer Verminderung von Monozyten, basophilen und eosinophilen Leukozyten und zum Anstieg der neutrophilen Leukozyten. Die Veränderung der Zellzahlen im Blutkreislauf ist auf eine Umverteilung der Blutzellen, insbesondere Eosinophile und T-Lymphozyten, vom Intra- in den Extravasalraum zurückzuführen. Glukokortikoide führen durch eine Freisetzung reifer Zellen aus dem Knochenmark und durch Hemmung ihrer Migration durch die Kapillarwand zur Leukozytose. Dieser „Pooling-Effekt“ ist 4-8 Stunden nach Kortikoidgabe am ausgeprägtesten und normalisiert sich bei niedrigen Dosen innerhalb von 72 Stunden. Glukokortikoide hemmen die Produktion immunregulierender Zytokine, wie Interleukin-1, Interleukin-2, Interleukin-3, Interleukin-6 und Interferon-γ. Glukokortikoide wirken auf Lymphozyten lymphopenisch, lympholytisch und lymphozytotoxisch.¹³

Zu den physiologischen Effekten der Glukokortikoide zählt des Weiteren die Regulation des Protein-, Kohlenhydrat-, Fett- und Nukleinsäurenmetabolismus.

Auf den Proteinmetabolismus wirken Glukokortikoide katabol. Sie vermindern die Synthese von Nukleinsäuren in den meisten Geweben und regulieren die Fettsäurenmobilisation, indem die Aktivität der zellulären Lipase stimuliert wird.

Ein Glukokortikoidexzess endogenen oder exogenen Ursprungs beeinflusst die Glukosetoleranz negativ.¹⁵ Eine kurzfristige Zufuhr (Stunden bis Tage) hochdosierter Glukokortikoide führt zu erhöhten Nüchternblutzuckerwerten und zu einer beeinträchtigten Glukosetoleranz. Glukokortikoide haben Einfluss auf die hepatische Glukoseproduktion. So erhöhen sie die Aktivität mehrerer Schlüsselenzyme, die an der Glukoneogenese beteiligt sind. Glukokortikoide erhöhen die Proteolyse und Lipolyse, was zu einer Erhöhung des Blutspiegels von Alanin, Laktat, Glyzerol und freien Fettsäuren führt. Alanin, Laktat und Glyzerol stellen Ausgangsstoffe für die Glukoneogenese dar, während durch eine vermehrte Oxidation von freien Fettsäuren die benötigte Energie bereitgestellt wird. Glukokortikoide wirken synergistisch zu Epinephrin und Glukagon im Hinblick auf die hepatische Glukoseproduktion. Die Glukosetoleranz wird durch dauerhafte Erhöhung des Plamacortisolspiegels vermindert. Bei zirka der Hälfte aller Personen, die langfristig hohe Dosen an Glukokortikoiden einnehmen bzw. an Morbus Cushing leiden, kommt es zu einer beeinträchtigten Glukosetoleranz. Bis zu 5-10% dieser Personen entwickeln einen Diabetes mellitus. Die Glukoseintoleranz resultiert aus einer Insulinresistenz des peripheren Gewebes, wie Muskel- und Fettgewebe, einer erhöhten Basalrate der hepatischen Glukoseproduktion und einer gestörten Suppression der hepatischen Glukoseproduktion durch Insulin.¹⁶ Bei gesunden Menschen kann der Defekt der Insulinwirkung durch Glukokortikoide nicht allein durch eine verminderte Anzahl der Insulinrezeptoren oder eine verminderte Affinität des Rezeptors auf Insulin erklärt werden.¹⁷

Cortisol wirkt verzögert, innerhalb von Stunden. Es wirkt hauptsächlich über eine Minderung der Glukoseaufnahme und über eine Erhöhung der Glukoseproduktion.¹⁸

In experimentellen Studien, die das Prinzip des hypoglykämischen Clamps anwenden, wurden Plasmakonzentrationen für Cortisol in der Hypoglykämie ermittelt. Meneilly et al. beschrieben Cortisolplasmawerte von $701 \pm 49 \text{ nmol/l}$ während einer Hypoglykämie von 50 mg/dl bei gesunden, älteren Personen.¹⁹

Die Arbeitsgruppe um Fanelli fand mittels hyperinsulinären hypoglykämischen Clamp Cortisolspiegel von $786 \pm 68 \text{ nmol/l}$ bei Glukosewerten von $\approx 42 \text{ mg/dl}$ bei Gesunden.²⁰

1.4 Epinephrin

Zu den drei natürlich vorkommenden Katecholaminen zählen Dopamin, Norepinephrin und Epinephrin. Epinephrin ist nicht nur ein Neurotransmitter im zentralen Nervensystem, sondern beeinflusst, als zirkulierendes Hormon aus dem Nebennierenmark, darüber hinaus Prozesse im gesamten Körper.

Im Nebennierenmark sind zirka 6mg Katecholamine gespeichert. Epinephrin macht davon einen Anteil von 85% aus. Die basalen Epinephrin-Spiegel betragen zirka 30-85ng/l (165-468pmol/l). Die basalen Norepinephrin-Plasmakonzentrationen liegen zwischen 185-275ng/l (1082-1623pmol/l).¹⁴

Katecholamine beeinflussen die Effektorzellen, indem sie mit spezifischen Rezeptoren auf der Zelloberfläche interagieren. Man unterscheidet zwei Hauptgruppen der adrenergen Rezeptortypen: α - und β -Rezeptoren.²¹ Epinephrin wirkt über den α - und β -adrenergen Rezeptor, der an die Adenylatcyclase gekoppelt ist. Die Bindung an den Rezeptor bewirkt eine Stimulation der Adenylatcyclase, die zum Anstieg der intrazellulären Konzentration an zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP) führt, wodurch u.a. die cAMP-abhängigen Proteinkinasen aktiviert werden. Durch die resultierende Phosphorylierung von Proteinen wird die Aktivität von Enzymen oder die Funktion von Proteinen so beeinflusst, dass der für das jeweils stimulierte Gewebe charakteristische Effekt die Folge ist.²¹ Epinephrin und Norepinephrin sind nahezu äquipotent in ihrer Wirkung an den α -Rezeptoren, die man in α 1- und α 2-Rezeptoren unterteilt.²²

Epinephrin und eine Stimulation des autonomen Nervensystems erhöht die hepatische Glukoseproduktion. Epinephrin stellt neben Glukagon das wichtigste gegenregulatorische Hormon zum Ausgleich einer Hypoglykämie dar.

Eine Stimulation der α 2-Rezeptoren des Pankreas führt zu einer verminderten Insulinsekretion.²³

β 2-Rezeptor vermittelt kommt es zu einer Störung der Glukosetoleranz. Über β 2-Rezeptoren kommt es zu einer Stimulation der Glukosefreisetzung aus der Leber sowie zu einer Insulinresistenz in der Peripherie. Eine Stimulation von β -Rezeptoren führt über eine gesteigerte Lipolyse zu einem Anstieg von freien Fettsäuren und Glycerol im Plasma. Ein signifikanter Anstieg des Glukagonspiegels ist ebenfalls auf die Stimulation von β -Rezeptoren zurückzuführen.¹⁶

Die Verminderung der Insulinsekretion über α 2-Rezeptoren und die Erhöhung der Glukagonsekretion über β -Rezeptoren unterstützen die direkte Wirkung der Katecholamine zur Substratfreisetzung und führen zur Glykogenolyse und Glukoneogenese in der Leber und zur Lipolyse.

Epinephrin, das bei fallendem Blutzuckerspiegel vom Nebennierenmark sezerniert wird, wirkt über komplexe Mechanismen. Einerseits kommt es zur Stimulation der Glukoseproduktion und Verminderung der Glukoseaufnahme vermittelt über direkte Wirkung am β 2-Rezeptor in der Leber und im Muskel. Andererseits besitzt Epinephrin eine indirekte Wirkung über die α 2-Rezeptor vermittelte Verminderung der Insulinsekretion, die β 2-Rezeptor vermittelte Stimulation der Glukagonsekretion und die Stimulation der Lipolyse.²⁴ Epinephrin und Glukagon wirken schnell, innerhalb von Minuten.

Hypoglykämie führt zu einem deutlichen Anstieg der Epinephrinfreisetzung aus dem Nebennierenmark. Davis et. al ermittelten im hyperinsulinämischen hypoglykämischen Clamp Epinephrinwerte von 2500 ± 400 pmol/l während einer moderaten Hypoglykämie von ≈ 60 mg/dl bei gesunden Probanden.²⁵ Meneilly und Mitarbeiter erhielten bei gesunden, älteren Personen im hyperinsulinären Glukoseclamp Epinephrinwerte von 1985 ± 198 pmol/l bei einer Hypoglykämie von ≈ 50 mg/dl.¹⁹ Die Glukoseschwelle für eine Epinephrinfreisetzung ist bei jungen Personen höher (≈ 60 mg/dl) als bei älteren Personen (≈ 50 mg/dl) und der Anstieg der Epinephrinwerte ausgeprägter.²⁶ Die Arbeitsgruppe um Fanelli fand ebenfalls mittels hyperinsulinämischen hypoglykämischen Clamp Epinephrinwerte von 5100 ± 300 pmol/l bei Glukosewerten von ≈ 42 mg/dl bei Gesunden.²⁰

1.5 Insulinrezeptor

Im Rahmen der Hypoglykämie kommt es zur Herabregulation des Insulinrezeptors.²⁷ Ob niedrige Blutglukosespiegel direkt oder z.B. gegenregulatorische Hormone diesen Effekt bewirken ist unklar.

Das Verständnis des Insulinrezeptors und damit gleichzeitig das Verständnis der Insulin-Signalkaskade gibt Aufschluss über verschiedene physiologische und pathophysiologische Mechanismen, wie auf z.B. die Hypoglykämie und den Diabetes

mellitus. Ein Baustein für das Verständnis des Insulin-Signalwegs ist die Kenntnis der Regulation der Insulinrezeptoren, ihrer Affinität und ihrer Anzahl.

Der Insulinrezeptor ist ein Heterotetramer bestehend aus 2 α - und 2 β -Untereinheiten. Die α -Untereinheiten sind an der Außenseite der Plasmamembran lokalisiert und werden über Disulfidbrücken mit den β -Untereinheiten verbunden. Die β -Untereinheiten des Insulinrezeptors bestehen aus einem extrazellulären Anteil, einer transmembranären Region und einem intrazellulären Anteil. Der intrazelluläre Anteil trägt eine tyrosinspezifische Kinaseaktivität. Der Rezeptor wird nach Bindung von Insulin und zum Teil auch spontan internalisiert. Er wird dann entweder zur Plasmamembran zurücktransportiert oder degradiert. Insulin bindet sich an die α -Untereinheit und aktiviert dadurch die Kinase des intrazellulär gelegenen Teils der β -Untereinheit.^{28,29,30,31} Dies hat eine Autophosphorylierung des Rezeptors an Tyrosinresten zur Folge. Aufgrund der wichtigen Rolle der Tyrosinkinase bei der Signaltransduktion haben mehrere Gruppen die Tyrosinkinaseaktivität in verschiedenen Zelltypen (Skelettmuskel, Adipozyten und Hepatozyten) untersucht.^{32,33,34} Die Autophosphorylierung führt zu einer Interaktion des Rezeptors mit Kopplungsproteinen. Der Insulinrezeptor interagiert über Postkinase-Signaltransmitter mit einer Reihe intrazellulärer Signaltransduktionswege und löst so die verschiedenen zellulären Insulineffekte aus.^{28-31,35} Dazu gehören u.a. anabole und antikatabole Effekte, wie die Proteinsynthese, Lipidsynthese und Glykogensynthese, Transporteffekte und eine Wachstumsstimulation.

Zusätzlich zur Tyrosinkinase gibt es weitere Second-Messenger-Wege am Insulinrezeptor. Dazu gehören die Interaktionen des Insulinrezeptors mit GTP-Bindungsproteinen,²⁸ die Stimulation einer spezifischen Phospholipase,³⁶ die Aktivierung einer membrangebundenen Serinkinase³⁷ und Strukturveränderungen des Insulinrezeptors.³⁸

Das humane Insulinrezeptor-Gen konnte geklont werden. Es befindet sich auf dem kurzen Arm des Chromosoms 19. Mindestens acht Punktmutationen sind bekannt, deren Gemeinsamkeit eine schwere Insulinresistenz ist.^{35,39,40,41} Allerdings besitzt nur ein kleiner Prozentsatz (<2-3%) der Diabetes-mellitus-Typ-2-Patienten eine Strukturveränderung im Insulinrezeptor-Gen.

Der menschliche Insulinrezeptor kommt in zwei Isoformen vor, die sich durch 12 Aminosäuren am C-terminalen Ende der α -Untereinheit voneinander unterscheiden. Die Expression dieser zwei Isoformen ist gewebeabhängig.^{42,43} In weiterführenden

Studien konnte gezeigt werden, dass die Expression der Rezeptor-Isoformen verschiedenen Regulationsmechanismen unterliegt. Sowohl Insulin⁴⁴ als auch Glukokortikoide⁴⁵ können die Struktur der Rezeptor-Isoformen beeinflussen. Allerdings konnten für die Rezeptor-Isoformen keine signifikanten Unterschiede in der Signaltransduktion gezeigt werden.^{46,47} Es wurden jedoch Unterschiede in der Insulinbindung nachgewiesen.⁴²

Insulin selbst führt zu einer Herabregulation des Insulinrezeptors. Werden Zellen in einem Insulin enthaltenden Medium inkubiert, reduziert sich die Insulinrezeptorkonzentration in Abhängigkeit von der Zeit und Temperatur.^{48,49} Der Insulinrezeptor besitzt eine Halbwertszeit von zirka 7-12 Stunden.⁵⁰ Es wurde nachgewiesen, dass Insulin den Abbau seines Rezeptors erhöht, was zu einer Verkürzung seiner Halbwertszeit auf zirka 2-3 Stunden führt.⁵¹ Der Effekt von Insulin auf den Umsatz seines Rezeptors oder dessen Herabregulation ist von physiologischer Bedeutung und auch nachweisbar bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen. Die Anzahl des Insulinrezeptors auf der Zelloberfläche korreliert invers mit dem Insulinspiegel, dem die Zelle zuvor ausgesetzt war.⁵²

Im Rahmen einer Hypoglykämie ist die Expression des Insulinrezeptors vermindert.²⁷ Die Ursachen hierfür sind bisher nur partiell geklärt. Die während Hypoglykämie induzierte Herabregulation der Insulinrezeptoren stellt vermutlich einen Schutzmechanismus dar. Durch die Verminderung von Insulinrezeptoren auf peripheren Zielzellen kann die Aufnahme von Glukose in der Peripherie zugunsten der Insulin unabhängigen Glukoseaufnahme im Gehirn gedrosselt werden. Glukose ist eine Voraussetzung für einen funktionierenden Stoffwechsel im Gehirn unter physiologischen Bedingungen. Da das Gehirn Glukose nicht synthetisieren kann und nur einen minimalen Vorrat an Glykogen speichern kann, ist es abhängig von einer kontinuierlichen Glukosezufuhr aus dem Blutkreislauf. Plasmaglukosekonzentrationen unterhalb der physiologischen Grenze sind unzureichend für den Glukosestoffwechsel im Gehirn und damit kritisch für das Überleben.

Da während einer Hypoglykämie die hormonelle Gegenregulation einsetzt, die insbesondere zur Freisetzung von Epinephrin und Cortisol führt, stellt sich die Frage, ob Epinephrin und Cortisol direkt den Insulinrezeptor beeinflussen und damit für die Insulinrezeptor-Herabregulation verantwortlich sind.

1.6 Interleukin-10 (IL-10)

Eine Hypoglykämie geht mit einer Erhöhung der IL-10-Konzentration im Plasma einher.⁵³ Unklar ist, wie dieser Effekt vermittelt wird und welchen Stellenwert IL-10 im Rahmen der Hypoglykämie hat. Als Vermittler der IL-10-Stimulation sind gegenregulatorische Hormone denkbar.

Maus-Interleukin-10 wurde von Fiorentino, Bond und Mosmann als „cytokine synthesis inhibitory factor (CSIF)“ identifiziert.⁵⁴ Dieses Zytokin wurde ebenfalls von Suda et al. entdeckt, als ein von B-Zellen stammender T-Zell-Wachstumsfaktor.⁵⁵ Die Existenz von humanem Interleukin-10 konnten Viera et al. durch Klonen der hIL-10cDNA an humanen T-Zellen nachweisen.⁵⁶ Interleukin-10 ist ein 18,5kDa Protein, bestehend aus 160 Aminosäuren. Das Gen für humanes IL-10 ist auf dem Chromosom 1 lokalisiert. Biologisch aktives IL-10 liegt als Homodimer vor.⁵⁷

Interleukin-10 wird von T-Lymphozyten, aktivierten B-Lymphozyten, Makrophagen / Monozyten und NK-Zellen gebildet.^{58,59,60} Die Zielzellen von IL-10 sind T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen und epitheliale Zellen.⁶¹ IL-10 hemmt die zelluläre Entzündungsreaktion. Es reduziert die Produktion von Zytokinen, wie $\text{TNF}\alpha$, Interleukin-1, Interleukin-6, Interleukin-8 und Interleukin-12. IL-10 verschlechtert die Antigen-Präsentation von Monozyten und Makrophagen durch Reduktion der Expression von Major-Histokompatibilitätskomplex-Molekülen. Es wirkt suppressiv auf die Entwicklung der Immunantwort und ist somit ein kontrainflammatorisches Zytokin.⁶²

Lipopolysaccharid (LPS) bewirkt die Freisetzung von IL-10. LPS ist ein Glykolipid aus der äußeren Zellmembran gramnegativer Bakterien, welches die $\text{TNF}\alpha$ -Synthese potent stimuliert.⁶³ LPS kann pathophysiologische Symptome hervorrufen, die für eine gramnegative Infektion charakteristisch sind (z.B. Fieber, Vasokonstriktion, Hypoglykämie, Gewichtsverlust, Hypotension, Schock und Tod). Daher wird der Begriff Endotoxin benutzt, um diese zellassozierten toxischen Effekte von denen der klassischen bakteriellen Exotoxine zu unterscheiden. LPS kann aber auch eine Reihe nützlicher Effekte bewirken (z.B. erhöhte Abwehr gegenüber Infektion und Krankheit).⁶⁴ LPS wird in experimentellen Arbeiten dazu genutzt, die Konzentration der Zytokine zu erhöhen und so den Messbereich kommerziell erhältlicher Assays zu erreichen. Der IL-10-Serumspiegel bei gesunden Menschen liegt unterhalb der Nachweisgrenze der zum Zeitpunkt der Durchführung der Experimente handelsüblichen Assays (5-10pg/ml).

Mittlerweile stehen sensitivere Testkits zur Verfügung. Cortisol und Epinephrin führen zu einem ausgeprägten Anstieg von IL-10 im mit LPS stimuliertem Blut beim Menschen in vivo.^{65,66} Es konnte gezeigt werden, dass eine kontinuierliche 12-stündige Cortisolinfusion (3µg / kg x min) begonnen 6 Stunden vor einer intravenösen LPS-Einmalgabe zu einem Anstieg der IL-10-Plasmakonzentration gegenüber der alleinigen LPS-Gabe führt.⁶⁵ In einem vergleichbaren experimentellen Protokoll gelang der Nachweis, dass eine 9-stündige kontinuierliche Epinephrininfusion (30ng / kg x min), begonnen 3 Stunden vor einer intravenösen Einmalgabe von LPS, zu einem signifikant höheren Anstieg der IL-10-Freisetzung führt als eine alleinige LPS-Gabe.⁶⁵ Eine Stimulation von LPS-Blut mit Epinephrin führt zu einem Anstieg der IL-10-Synthese auf der Ebene der Proteinkonzentration und der mRNA von humanen mononukleären Zellen in vitro.⁶⁷

1.7 Tumornekrosefaktor alpha (TNFα)

Im Gegensatz zu IL-10 stellt TNFα ein proinflammatorisches Zytokin dar. Da eine Hypoglykämie mit einer Erhöhung des kontrainflammatorischen Zytokins IL-10 einhergeht, sind gegenläufige Regulationen für TNFα denkbar.

1975 wurde erstmals aus dem Serum von Mäusen eine Substanz isoliert, die einen direkt zytotoxischen Effekt auf Tumorzellen ausübt – der Tumornekrosefaktor.⁶⁸

Durch Sequenzanalysen wurde 1985 gezeigt, dass Kachektin und TNF identisch sind.⁶⁹ Als aktives Polypeptid hat humanes TNFα eine Sequenz von 157 Aminosäuren.⁷⁰ TNF ist in seiner biologisch aktiven Form ein trimeres Molekül mit jeweils 17kDa monomeren Einheiten.^{71,72}

TNFα bindet an zwei verschiedene Rezeptoren, die sich an Zelloberflächen befinden. Diese Rezeptoren werden entsprechend ihrem Molekulargewicht p60 und p80 bezeichnet.⁷³

TNFα wird hauptsächlich von Monozyten / Makrophagen, aber auch von stimulierten T-Zellen, NK-Zellen und Mastzellen freigesetzt. Des Weiteren sind Kupffer-Zellen der Leber, Gliazellen des Zentralnervensystems und andere Zellen in der Lage, TNFα zu sezernieren.⁷⁴

In geringer Quantität (10^{-9} mol/l) aktiviert TNFα Neutrophile⁷⁵ und stimuliert Monozyten/Makrophagen zur Zytokinproduktion. In größerer Quantität produziert, tritt TNFα in die

Blutbahn über und hat hormonähnliche Wirkung. Es wirkt auf Zellen des Hypothalamus und induziert Fieber. Es induziert die Interleukin-1- und Interleukin-6-Synthese in Monozyten.⁷⁶ Zusammen mit diesen Interleukinen ist es für die gesteigerte Produktion von Akutphaseproteinen verantwortlich und vermittelt somit lokale und systemische Entzündungsreaktionen.⁷⁷ $\text{TNF}\alpha$ hemmt die Gerinnung und unterdrückt Stammzellen im Knochenmark.⁷⁸ Langfristig verabreicht führt es zur Kachexie. In extremer Dosierung reduziert $\text{TNF}\alpha$ die kardiale Kontraktilität, bewirkt eine Relaxation des Tonus der glatten Muskulatur mit Blutdruckabfall und eine diffuse intravasale Gerinnung und löst metabolische Störungen aus, wie z.B. massive Hypoglykämien.⁷⁹

$\text{TNF}\alpha$ führt bei Ratten zu einem Anstieg der Fettsäuresynthese in der Leber, wohingegen es den Lipidgehalt im Fettgewebe durch Hemmung der Lipoprotein-Lipase-Aktivität senkt. Die Hemmung der peripheren Lipoprotein-Lipase und die Stimulation der hepatischen Lipogenese führten zur Entstehung einer Hypertriglyzeridämie in vivo.^{80,81}

In den letzten Jahren konnte auch beim Menschen nachgewiesen werden, dass Fett- und Muskelgewebe weitere Bildungsorte für $\text{TNF}\alpha$ sind. Ein gesteigerter $\text{TNF}\alpha$ -Spiegel wurde bei übergewichtigen Menschen im Fett- und Muskelgewebe nachgewiesen.^{82,83}

Der $\text{TNF}\alpha$ -mRNA-Gehalt im Fettgewebe korreliert positiv mit dem Body Mass Index (BMI).⁸² Vor dem Hintergrund, dass eine erhöhte Insulinresistenz eine Schlüsselrolle in der Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 2 darstellt und die meisten der Typ2-Diabetiker übergewichtig sind², stellt sich die Frage, inwiefern $\text{TNF}\alpha$ die Entstehung einer Insulinresistenz beeinflusst. Es wurde demonstriert, dass der $\text{TNF}\alpha$ -Plasmaspiegel mit dem Grad der Insulinresistenz, festgestellt in einer euglykämischen hyperinsulinären Clamptechnik, positiv korreliert.⁸⁴

Glukokortikoide (z.B. Dexamethason und Cortisol) blockieren die Synthese von $\text{TNF}\alpha$. Dexamethason besitzt einen inhibitorischen Effekt auf die $\text{TNF}\alpha$ -Gentranskription. Dexamethason blockiert sowohl die mRNA-Transkription, als auch die Translation und besitzt somit einen doppelt negativen Effekt auf die $\text{TNF}\alpha$ -Synthese.⁸⁵

Untersuchungen haben gezeigt, dass Epinephrin und Cortisol auch beim Menschen die LPS-induzierte Sekretion von $\text{TNF}\alpha$ in vitro hemmen. Van der Poll et al. konnten nachweisen, dass eine Hyperkortisolämie während einer LPS induzierten Endotoxinämie ein Absinken von $\text{TNF}\alpha$ nach sich zieht. Es handelt sich hierbei um in vitro Untersuchungen mit humanen Vollblutproben. Im Vergleich zu alleiniger Inkubation von Vollblut mit LPS kommt es bei der Inkubation von Vollblut mit LPS und Cortisol zu einer Reduktion der $\text{TNF}\alpha$ -Konzentration.⁶⁵ Der gleiche Effekt konnte für Epinephrin in

humanen Vollblutproben in vitro gezeigt werden. Auch in vivo führt Epinephrin zu einer verminderten TNF α -Freisetzung in der Endotoxinämie bei gesunden Probanden. Verglichen wurde bei diesen Experimenten der TNF α -Spiegel nach Epinephrininfusion und intravenöser LPS-Gabe mit der alleinigen intravenösen LPS-Applikation.⁶⁶

Es stellt sich die Frage, inwiefern TNF α durch die Hormone Cortisol und Epinephrin bei gesunden Menschen in vivo beeinflusst wird und welche Rolle TNF α in der Hypoglykämie-regulation spielt.