

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik
mit Schwerpunkt Gastroenterologie, Hepatologie und Endokrinologie
Campus Charité Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Einfluss von Epinephrin und Hydrocortison
auf die Insulinrezeptorregulation
sowie die Tumornekrosefaktor- α - und Interleukin-10-Konzentration
bei Gesunden

Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Karin Gaßmann
aus Stralsund

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. I. Koop
2. Priv.-Doz. Dr. med. D. Hörsch
3. Priv.-Doz. Dr. med. S. Nikolaus

Datum der Promotion: 22.02.2008

Inhalt

1	Einleitung	5
1.1	Euglykämie	5
1.2	Hypoglykämie	6
1.3	Cortisol	8
1.4	Epinephrin	10
1.5	Insulinrezeptor	11
1.6	Interleukin-10 (IL-10)	14
1.7.	Tumornekrosefaktor alpha (TNF α)	15
2	Aufgabenstellung	18
3	Material und Methode	19
3.1	Probanden	19
3.2	Experimentelles Protokoll	20
	3.2.1 Dosisfindung Hydrocortison	22
	3.2.2 Hauptversuch Hydrocortison	22
	3.2.3 Dosisfindung Epinephrin	23
	3.2.4 Hauptversuch Epinephrin	23
	3.2.5 Kontrollgruppe	24
3.3	Analytische Methoden	25
	3.3.1 Insulinbindungsexperiment	25
	3.3.2 Vollblut-Stimulationsassay	27
	3.3.3 TNF α -Bestimmung	27
	3.3.4 IL-10-Bestimmung	28
	3.3.5 Glukosebestimmung	28
	3.3.6 Cortisolbestimmung	29
	3.3.7 Epinephrinbestimmung	29
	3.3.8 Insulinbestimmung	30
3.4	Materialien	31
	3.4.1 Medikamente / Chemikalien	31
	3.4.2 Assays	32
	3.4.3 Instrumente	32
3.5	Statistik	32

4	Ergebnisse	33
4.1	Kontrollgruppe	33
4.2	Dosisfindung Hydrocortison	34
4.3	Hauptversuch Hydrocortison	36
	4.3.1 Cortisol, Glukose und Insulin	36
	4.3.2 Blutbild und Differentialblutbild	38
	4.3.3 Insulinbindung der Monozyten	39
	4.3.4 IL-10	40
	4.3.5 TNF α	40
4.4	Dosisfindung Epinephrin	41
4.5	Hauptversuch Epinephrin	43
	4.5.1 Epinephrin, Glukose und Insulin	43
	4.5.2 Blutbild und Differentialblutbild	45
	4.5.3 Insulinbindung der Monozyten	46
	4.5.4 IL-10	47
	4.5.5 TNF α	48
5	Diskussion	49
5.1	Einfluss von Cortisol und Epinephrin auf die Insulinbindung	49
5.2	Interaktionen zwischen Cortisol und den Zytokinen IL-10 und TNF α	53
5.3	Interaktionen zwischen Epinephrin und den Zytokinen IL-10 und TNF α	56
6	Zusammenfassung	60
7	Literaturverzeichnis	62

6 Zusammenfassung

Während einer Hypoglykämie kommt es zu einer Herabregulation der Insulinrezeptoren auf isolierten peripheren mononukleären Zellen. Insulin konnte als alleinige Ursache für die Herabregulation der Insulinrezeptoranzahl ausgeschlossen werden. Während einer Hypoglykämie kommt es zu einer ausgeprägten Sekretion der gegenregulatorischen Hormone Epinephrin und Cortisol.

Eine Hypoglykämie bedingt die Sekretion des kontrainflammatorischen Zytokins Interleukin-10. Bei Untersuchungen mittels hyperinsulinämischen euglykämischen Clamp blieb IL-10 auf einem konstanten Niveau. $\text{TNF}\alpha$ stellt als proinflammatorisches Zytokin einen Gegenspieler zu IL-10 dar.

Ziel dieser Studie war es, den Effekt von Epinephrin und Cortisol auf den Insulin-Rezeptor-Status an isolierten peripheren mononukleären Zellen bei gesunden Probanden zu untersuchen.

Ein sekundäres Ziel der Studie war es, die Rolle von Epinephrin und Cortisol, in Konzentrationen, wie sie bei einer Hypoglykämie vorkommen, auf die Sekretion der Zytokine IL-10 und $\text{TNF}\alpha$ zu untersuchen.

Gesunde Probanden ($n=10$; 6m,4w; Alter: $24,4\pm 3,8$; BMI: $21,6\pm 1,6$) erhielten eine Infusion von $2\mu\text{g}/\text{kg} \times \text{min}$ Hydrocortison über 180 Minuten.

Eine zweite Probandengruppe ($n=10$, 6m,4w; Alter: $24,1\pm 3,2$; BMI: $21,7\pm 2,2$) erhielt eine Infusion mit $25\text{ng}/\text{kg} \times \text{min}$ Epinephrin über 60 Minuten und $75\text{ng}/\text{kg} \times \text{min}$ Epinephrin in den anschließenden 60 Minuten.

Zum Infusionsbeginn und zum Infusionsende wurden periphere mononukleäre Zellen isoliert und die Insulinbindung bestimmt. Zu verschiedenen Zeitpunkten während der Infusion wurde die Epinephrin- bzw. Cortisol-, Glukose- und Insulinkonzentration bestimmt. Die IL-10- und $\text{TNF}\alpha$ -Bestimmung erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten während der Infusion aus Serum bzw. Plasma sowie aus Vollblutproben mit und ohne LPS zum Infusionsbeginn und zum Infusionsende.

Während der Cortisolinfusion stiegen die Cortisol-Serumwerte von 516 ± 60 auf 1090 ± 115 nmol/l ($P < 0,05$). Die Insulinbindung der Monozyten nahm von $11,55\pm 1,73$ zum Beginn der Infusion auf $9,75\pm 1,25$ zum Ende der Infusion ab (statistisch nicht signifikant). Während der Cortisolinfusion konnte keine Änderung der IL-10- und TNF α -Plasmakonzentration nachgewiesen werden.

Während der Infusion von Epinephrin stieg die Epinephrin-Plasmakonzentration von 469 ± 98 auf 4781 ± 496 pmol/l ($P < 0,05$). Die Insulinbindung der Monozyten nahm von $6,67\pm 0,57$ zum Beginn der Infusion auf $5,72\pm 0,56$ zum Ende der Infusion ab (statistisch nicht signifikant). Während der Epinephrininfusion kam zu einem deutlichen Anstieg der IL-10-Konzentration im Serum ($P < 0,05$) und im Vollblut mit und ohne LPS ($P < 0,001$). Die LPS stimulierte TNF α -Konzentration im Vollblutassay blieb unverändert.

Für Epinephrin und Cortisol konnte, in einer Konzentration, wie sie während einer Hypoglykämie auftritt, kein direkter Effekt auf die Insulinrezeptorbindung bei humanen peripheren mononukleären Zellen beobachtet werden. Es ist unklar, inwiefern ein längerandauernder Einfluss der beiden Hormone zu einer Änderung der Bindungskapazität oder Anzahl der Insulinrezeptoren führt, oder ob bei einer kurzfristigen Erhöhung von Epinephrin oder Cortisol zu einem späteren Zeitpunkt Änderungen der Insulinrezeptorbindung eintreten. Des Weiteren ist ein Effekt von Epinephrin und Cortisol auf die Insulinrezeptorbindung an anderen Zielzellen denkbar. Der in dieser Arbeit nachgewiesene stimulierende Effekt auf IL-10 durch Epinephrin, in Konzentrationen, wie sie während einer Hypoglykämie vorkommen, steht im Einklang mit den Ergebnissen von Publikationen, die den Einfluss von Epinephrin auf IL-10 in Entzündungs- oder Immunerkrankungen untersuchten.