

Effekte intranasalen Insulins auf die Nahrungsaufnahme
unter natürlichen Bedingungen

Stephanie Löhr
2016

Aus dem Institut für Klinische Neurowissenschaften und
Medizinische Psychologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Leiter: Univ.-Prof. Dr. Alfons Schnitzler

Effekte intranasalen Insulins auf die Nahrungsaufnahme
unter natürlichen Bedingungen

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Stephanie Löhr
2016

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Joachim Windolf

Erstgutachterin: Prof. Dr. Ursula Stockhorst

Zweitgutachter: Prof. Dr. Matthias Schott

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Verzeichnis der fachspezifischen Abkürzungen.....	IV
Abstract.....	1
1. Einleitung	3
1.1 Allgemeine Einführung.....	3
1.2 Transport von intranasal verabreichtem Insulin ins ZNS.....	4
1.2.1 Systemischer Transportweg	5
1.2.2 Olfaktorischer Transportweg	5
1.3 Insulinwirkungen im ZNS: Effekte auf Nahrungsaufnahme und metabolische Parameter: Grundlagen.....	6
1.3.1 Nahrungsaufnahme	7
1.3.2 Glukosemetabolismus.....	13
1.3.3 Fettstoffwechsel.....	16
1.3.4 Reproduktion und Sexualhormone.....	18
1.4 Katabole Effekt zentral wirksamen Insulins auf Nahrungsaufnahme: Tier- und Humandaten.....	20
1.4.1 Tierexperimente zur chronischen zentralen Insulingabe.....	20
1.4.2 Tierexperimente zur akuten zentralen Insulingabe.....	21
1.4.3 Humanexperimente zur intranasalen Insulingabe.....	23
1.5 Natürliches Essverhalten.....	24
1.5.1 Erfassungsmethoden.....	24
1.5.2 Komponenten des Essverhaltens.....	26
1.5.2.1 Gesamtkalorienaufnahme und zeitliche Verteilung	26
1.5.2.2 Makronährstoffe.....	27
1.6 Adipositas und zentral wirksames Insulin und Leptin	29
1.7 Fragestellungen und Hypothesen.....	31
2. Methode.....	33
2.1 Versuchsplan und (quasi)-unabhängige Variablen.....	33
2.2 Abhängige Variablen.....	34
2.2.1 Parameter der Nahrungsaufnahme.....	34

2.2.1.1 Akute Nahrungsaufnahme in der Laborsitzung.....	34
2.2.1.2 Essverhalten unter natürlichen Bedingungen.....	35
2.2.2 Blutzuckerspiegel und ausgewählte Hormone: Insulin, Leptin und Östradiol.....	38
2.3 Versuchsablauf.....	40
2.3.1 Anamnese-sitzung.....	40
2.3.2 Laborsitzung inklusive Erfassung des Essverhaltens unter natürlichen Bedingungen.....	42
2.4 Versuchspersonen.....	45
2.5 Zeitliche und örtliche Durchführung.....	46
2.6 Versuchsleiter	46
2.7 Auswertung	47
2.7.1 Übersicht.....	47
2.7.2 Gesamtkalorienmenge an den Tagen 1 bis 3.....	48
2.7.3 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß.....	48
2.7.4 Meal pattern an Tag 1.....	49
2.7.5 Paarweise Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und den Hormonen: Insulin, Leptin und Östrogen.....	50
2.7.6 Paarweise Korrelation zwischen den prozentualen Nährstoffanteilen von Fett und Kohlenhydraten und den Hormonen: Insulin, Leptin und Östrogen.....	50
3. Ergebnisse.....	52
3.1 Gesamtkalorienmenge	52
3.1.1 Gesamtkalorienmenge an Tag 1.....	52
3.1.2 Gesamtkalorienmenge an Tag 2.....	54
3.1.3 Gesamtkalorienmenge an Tag 3.....	55
3.2 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß.....	57
3.2.1 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung an Tag 1.....	57
3.2.2 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung an Tag 2.....	61
3.2.3 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung an Tag 3.....	64
3.3 Meal pattern an Tag 1.....	67
3.3.1 Zeitlicher Abstand zwischen der Testmahlzeit und der ersten Nahrungsaufnahme an Tag 1.....	67

3.3.2 Zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme über den Tag 1.....	69
3.4 Paarweise Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und den Hormonspiegeln Insulin, Leptin und Östrogen an Tag 1.....	72
3.5 Paarweise Korrelation zwischen dem prozentualen Fett- und Kohlenhydratkonsum und den Hormonen Insulin, Leptin und Östrogen an Tag 1.....	74
4. Diskussion und Schlussfolgerungen.....	79
4.1 Stellungnahme zu den Hypothesen.....	79
4.2 Methodische Einschränkungen	91
4.3 Forschungsperspektiven.....	94
4.3.1 Hauptzielvariablen.....	94
4.3.2 Weitere zu adressierende Forschungsperspektiven.....	96
4.4 Schlussfolgerungen.....	101
5. Literaturverzeichnis.....	103

Verzeichnis der fachspezifischen Abkürzungen

AgRP	Agouti-related Peptide
ATP	Adenosintriphosphat
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	Body Mass Index
BSL	Bundeslebensmittelschlüssel
CA	Cornu ammonis
cAMP	cyklisches Adenosinmonophosphat
CART	Cocain and amphetamine regulated transcript
CCK	Cholecystokinin
CRH	Corticotropin-releasing Hormon
CSF	Cerebrospinalflüssigkeit
d	dies (Tag)
DDZ	Deutsches Diabetes Zentrum
ER	Östrogen-Rezeptor
EWL	Eigenschaftswörterliste
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GABA	γ -Aminobuttersäure
Gesamt-VK	Gesamt-Variationskoeffizient
GLUT-1	Glukosetransporter Typ 1
GLUT-4	Glukosetransporter Typ 4
GnRH	Gonadotropin-releasing Hormon
h	hour (Stunde)
HCL	hepatozelluläre Lipide
ICSH	Interstitial cell stimulating hormone spermatogenese
icv	intracerebroventrikulär

IE	Internationale Einheit
INS	INS (als Abkürzung für die mit Insulin behandelten Probanden)
IRS	Insulin-Rezeptor Substrat
K _{ATP}	ATP-sensitiver Kalium-Kanal
kcal	Kilokalorie
KG	Körpergewicht
LH	Luteinisierendes Hormon
LHA	Lateral hypothalamic area
MC3/4-Rezeptor	Melanocortin-Rezeptor Typ 3 und 4
MCH	Melanin-concentrating hormone
mRNA	messenger ribonucleid acid
MSH	Melanozyten-stimulierendes Hormon
MT II	Melanocortin Agonist Typ 2
MZP	Messzeitpunkte
NA	Noradrenalin
NADH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NIRKO	Brain-specific insulin receptor knockout
NNR	Nebennierenrinde
NPY	Neuropeptid Y
NTS	Nucleus tractus solitarii
Olfactory Reg	Olfactory Region
Plac	Placebo
Pbn	Probanden
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
POMC	Pro-opio-melanocortin
PVN	paraventricularis (siehe Nucleus paraventricularis)
PYY	Peptid-Tyrosyl-Tyrosin

RLE	Relative Lichteinheit
TAG	Triacylglycerine
TRH	Thyreotropin Releasing Hormon
VMH	Nucleus ventromedialis
ZNS	Zentralnervensystem

Abstract

Hintergrund: Insulin ist ein wichtiger Neuromodulator, u. a. als zentrales Sättigungs- und Adipositassignal bei der Regulation von Essverhalten und Körpergewicht. Mittels intranasaler Applikation lassen sich Insulinspiegel im zentralen Nervensystem unter Beibehaltung peripherer Euglykämie erhöhen. Experimentelle Daten aus dem Tier- und Humanbereich belegen, dass akute zentrale Insulingabe zu einer verminderten Nahrungsaufnahme führt. Gegenstand dieser Arbeit sind die Effekte von intranasalem Insulin (vs. Placebo), das akut unter Laborbedingungen verabreicht wurde, auf das nachfolgende Essverhalten (drei konsekutive Tage) unter natürlichen Bedingungen. Außerdem werden Zusammenhänge zwischen ausgewählten Hormonen (Insulin, Leptin, Östrogen) und Parametern des natürlichen Essverhaltens untersucht

Methode: In einer randomisierten Doppelblindstudie (DFG-Projekt: Insulin im ZNS) erhielten 63 gesunde Probanden (31 Männer, 32 freizyklierende Frauen, Alter: $M = 24.57 \pm 0.35$ [SEM] Jahre, *Body Mass Index*: $M = 23.12 \pm 0.47$ kg/m²) unter Laborbedingungen sechsmal intranasales Insulin (Insulin insuman rapid U100, Hoechst; 10 IE [internationale Einheiten] pro Nasenloch = 20 IE = 0.2 ml pro Zeitpunkt) bzw. Placebo (Verdünnungspuffer HOE 31, 0.2 ml) im 15-minütigen Abstand. Im Labor wurden u. a. Hormonspiegel (Insulin, Leptin, Östrogen) und das Essverhalten (in einer Standard-testmahlzeit) erhoben. Im Rahmen des o. g. DFG-Gesamtprojekts analysiert die vorliegende Dissertation Daten zum Essverhalten unter natürlichen Bedingungen anhand von 24 Stunden umfassenden Nahrungsprotokollen, die über drei Tage nach Ende der Laborsitzung ausgefüllt wurden. Ausgewertet wurden dabei die Gesamtkalorienaufnahme pro Tag und die prozentuale Makronährstoffzusammensetzung (Fett, Kohlenhydrate, Proteine). Speziell an Tag 1 wurde auch die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme (*Meal pattern*) analysiert. Zudem wurden Korrelationen zwischen den genannten Parametern des natürlichen Essverhaltens und den unter Laborbedingungen erfassten Hormonspiegeln berechnet. Sämtliche Intergruppenvergleiche der insulin- vs. placebo-behandelten Probanden wurden zudem getrennt für männliche und weibliche Probanden analysiert.

Ergebnisse: Intranasales Insulin hatte im Vergleich zu intranasalem Placebo keinen Effekt auf die Gesamtkalorienmenge, jedoch erwartungskonform auf deren prozentuale Makronährstoffzusammensetzung an einzelnen Erhebungstagen. Die insulinbehandelten Probanden zeigten an Tag 1 einen niedrigeren prozentualen Fett- ($p = 0.003$) und höheren prozentualen Kohlenhydratkonsum ($p = 0.019$) bei unverändertem prozentualen Eiweißanteil. Dies galt auch richtungsmäßig bei getrennter Analyse für Männer und Frauen. Dabei wiesen Männer und Frauen an Tag 1 einen geringeren Fett- und höheren Kohlenhydratkonsum auf,

wobei – unter Berücksichtigung der α -Adjustierung ($\alpha = 0.025$) – nur der prozentual geringere Fettkonsum der Frauen ($p = 0.022$) signifikant wurde. Nur für Männer zeigte sich zudem an Tag 2 ein signifikant geringerer prozentualer Fettkonsum ($p = 0.009$). Das *Meal pattern* blieb unbeeinflusst. Unter Insulingabe bestanden keine signifikanten Korrelationen zwischen der Gesamtkalorienmenge und peripheren Hormonspiegeln. Allerdings zeigten sich die bei Frauen unter Insulingabe auftretenden Veränderungen im Plasma-Leptinspiegel hoch mit dem relativen Fett- und Kohlenhydratkonsum assoziiert, wohingegen bei Männern keine korrelativen Zusammenhänge nachweisbar waren.

Schlussfolgerungen: Intranasales Insulin führt nach akuter Verabreichung auch unter natürlichen Bedingungen initial (Tag 1) zu einem prozentual geringeren Fett- und höheren Kohlenhydratkonsum bei unveränderter Gesamtkalorienmenge, wobei Männer auch nachfolgend (an Tag 2) noch einen prozentual geringeren Fettkonsum zeigen. Es liegen somit erste Hinweise vor, dass intranasales Insulin beim Menschen eine fettkonsumreduzierte Nährstoffaufnahme begünstigt, weshalb es therapeutisch zur Ernährungsumstellung und Gewichtsreduktion eingesetzt werden könnte. Inwieweit zentrales Insulin die Nahrungsaufnahme – zusätzlich zu den wahrscheinlich hypothalamisch vermittelten, fettkonsum-reduzierenden Effekten – auch über weitere Komponenten, wie die Veränderung der Geruchswahrnehmung oder der Belohnungswirkung von Nahrung beeinflusst, gilt es in weiteren Studien zu untersuchen.

1. Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

Das Gehirn wurde bis in die 70er Jahre hinein als insulinunempfindliches Gewebe angesehen. Diese Vorstellung musste mit der Entdeckung von Insulin und Insulinrezeptoren im Gehirn von Nagetieren (Havrankova, Schmechel, Roth & Brownstein, 1978) revidiert werden. Heute ist bekannt, dass zentrales Insulin eine wichtige Schlüsselrolle als Neuromodulator bei der Steuerung verschiedener zentralnervös regulierter Funktionen einnimmt. Zu diesen Funktionen gehören die Nahrungsaufnahme (Clegg & Woods, 2004; Wynne, Stanley, McGowan & Bloom, 2005; Figlewicz & Benoit, 2009) (vgl. 1.3.1) und der Glukosemetabolismus (Prodi & Obici, 2006; Obici, Zhang, Karkanias & Rossetti, 2002) (vgl. 1.3.2), sowie Bereiche von Wachstum und Entwicklung im Zentralnervensystem (Yang, Raizada & Fellows, 1981; Clarke, Boyd, Kappy & Raizada, 1985; Schulingkamp Pagano, Hung & Raffa, 2000) oder die Gedächtnisbildung (Krug, Benedict, Born & Hallschmid, 2010; Benedict, Kern, Schultes, Born & Hallschmid, 2008).

Grundlage für die zentralen Effekte von Insulin ist das Vorhandensein von Insulinrezeptoren im Zentralnervensystem (ZNS). Diese sind mit der höchsten Dichte im Bulbus olfactorius lokalisiert. Darüber hinaus finden sich Rezeptoren im Hypothalamus (speziell dem Nucleus arcuatus) sowie in hippocampalen Regionen (Gyrus dentatus sowie die Felder CA1 und CA3 des Cornu ammonis [CA]), in der Amygdala, in mesolimbischen Gebieten und verteilt über den zerebralen Kortex (Hopkins & Williams, 1997; Schulingkamp et al, 2000).

Die Entdeckung von zentralen Insulinrezeptoren führte zu der Frage, wie das im Pankreas gebildete, periphere Hormon ins ZNS gelangen kann. Denn das Gehirn wird durch eine physiologische Barriere vom Blutkreislauf abgegrenzt. Diese Blut-Hirn-Schranke (BHS) besteht hauptsächlich aus Endothelzellen, die über sogenannte *tight junctions* miteinander verbunden sind. Diese *tight junctions* werden auch als Schlussleisten bezeichnet und bilden am luminalen Zellpol die Verbindung zwischen den Plasmamembranen der benachbarten Epithelzellen (Korbmacher & Greger, 2005). Durch diesen Aufbau wird die freie Diffusion von im Blutkreislauf zirkulierenden Stoffen ins ZNS verhindert. Einige Moleküle sind allerdings in der Lage transzellulär oder parazellulär diese Schranke zu passieren. Für andere Stoffe gibt es im Bereich der Endothelzellschicht spezifische Transportkanäle, welche die Aufnahme ins ZNS ermöglichen (Illum, 2000). Die BHS wirkt also wie ein hochselektiver Filter und schützt das Gehirn vor unerwünschten Stoffen.

Im Fall von Insulin wurden zwei unterschiedliche Transportsysteme ins Gehirn entdeckt. Der sogenannte systemische Weg und der olfaktorische. Der zuerst genannte wird beim

Transport von Insulin aus dem peripheren Blut ins ZNS genutzt. Der zuletzt genannte ermöglicht es, dass das Hormon über das olfaktorische Epithel im Bereich der Nasenhöhle direkt ins ZNS aufgenommen werden kann (vgl. 1.2.1). Die Entdeckung dieser Transportsysteme bildet die Grundlage für Humanstudien mit intranasal verabreichtem Insulin.

Die in dieser Arbeit dargestellte Studie verwendet die intranasale Applikationsform, um den Einfluss von zentralem Insulin auf die Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen zu untersuchen. Neben der Gesamtkalorienmenge ist dabei die Qualität der Nahrungsaufnahme hinsichtlich ihrer prozentualen Zusammensetzung aus den drei Makronährstoffen (Fett, Kohlenhydrate, Eiweiß) Gegenstand der Untersuchung. Dabei liegt ein Hauptaugenmerk u. a. auf dem prozentualen Fettkonsum, da Befunde vorliegen, die zum einen darauf hinweisen, dass der Fettanteil der aufgenommenen Nahrung eine entscheidende Rolle bei der Gewichtsreduktion spielt, und zum anderen, dass fetthaltige Nahrung die Wirkung von Insulin im ZNS beeinflussen kann. Neben diesen beiden Komponenten des Essverhaltens, wird auch die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme, das sog. *Meal pattern*, erfasst. Explorativ werden darüber hinaus Zusammenhänge zwischen ausgewählten Hormonen (Insulin, Leptin, Östrogen) und Parametern des natürlichen Essverhaltens (Gesamtkalorienaufnahme, prozentuale Nährstoffverteilung) untersucht. Dabei wird den Befunden Rechnung getragen, dass Männer und Frauen unterschiedlich sensitiv sind für einige der Wirkungen zentralen Insulins (vgl. 1.4.2 und 1.4.3).

1.2 Transport von intranasal verabreichtem Insulin ins ZNS

In Form von Nasenspray applizierte Medikamente gelangen in der Nasenhöhle zur olfaktorischen Region, welche die Zellkörper der olfaktorischen Neurone enthält. Die Fasern der Neurone ziehen durch die Lamina cribrosa, welche die Begrenzung zur Schädelhöhle bildet, und vereinigen sich zum Nervus olfactorius. Für die intranasal applizierten Medikamente werden ausgehend von der Riechschleimhaut nach Illum (2000, 2004) ein systemischer und ein olfaktorischer Transportweg ins Gehirn diskutiert, welche im Folgenden dargestellt werden (Abbildung 1).

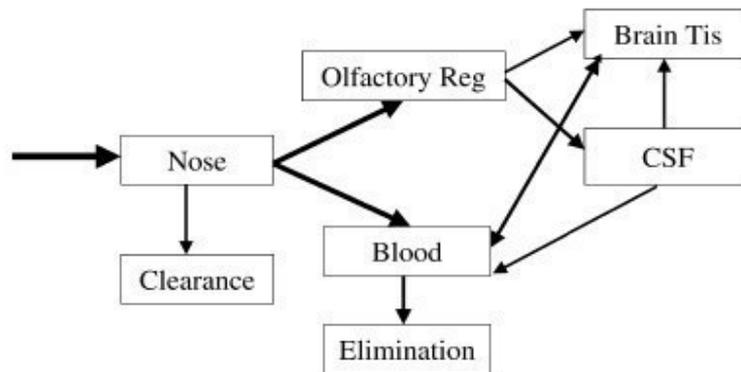


Abbildung 1. Transportwege über die Nase zur olfaktorischen Region (*Olfactory reg*) bzw. ins Blut zum Hirngewebe (*Brain tis*) aus Ilum (2000, p. 6).

1.2.1 Systemischer Transportweg

Bei dem sogenannten systemischen Weg werden die Medikamente nach Applikation enzymatisch abgebaut oder durch die mucociliare *Clearance* geklärt. Von hier aus gelangen sie wahrscheinlich direkt ins Blut. Dort werden sie entweder durch enzymatische Abbausysteme entfernt oder aber sie passieren die BHS für den Fall, dass sie lipophil sind bzw. es einen entsprechenden Rezeptor gibt (vgl 1.1).

1.2.2 Olfaktorischer Transportweg

Im Gegensatz zum systemischen Transportweg werden beim sogenannten olfaktorischen Weg die Medikamente direkt in die Cerebrospinalflüssigkeit (CSF) transportiert. Es wird davon ausgegangen, dass dieser Transportweg in zwei verschiedenen Varianten ablaufen kann:

- ♦ Die erste Variante wird als axonaler Weg bezeichnet. Hierbei wird das applizierte Medikament mittels Endo- oder Pinozytose in ein Neuron des olfaktorischen Epithels aufgenommen. Intrazellulär wird die Substanz dann entlang des Axons zum Bulbus olfactorius transportiert.
- ♦ Bei der zweiten Variante, dem extrazellulären Weg, erfolgt die passive Diffusion des Medikaments. Dies geschieht entweder transzellulär über die Stützzellen der Epithelschicht oder parazellulär über die *tight junctions* zwischen den Endothelzellen.

Es wird davon ausgegangen, dass die Substanzen in den perineuralen Raum gelangen,

welcher den Nervus olfactorius umgibt, und so direkt in die CSF transportiert werden (Illum, 2000, 2004). Der olfaktorische Weg ermöglicht also einen direkten Transport von nasal applizierten Stoffen in die CSF und bildet somit die Grundlage für Humanstudien mit intranasalem Insulin. Im Folgenden wird daher ein kurzer Überblick über die Eigenschaften dieses Transportweges gegeben.

Verschiedene Autoren haben in den letzten Jahren mit unterschiedlichen Stoffen den pharmakologischen Beweis für die Existenz des olfaktorischen Transportwegs geliefert und seine Eigenschaften untersucht.

Zu diesen gehören Kristensson und Olsson, die bereits 1971 den axonalen Mechanismus des olfaktorischen Transportwegs nachweisen konnten. Mit Hilfe von Protein-Tracern zeigten sie, dass die markierten Proteine an die sensorischen Zellen des olfaktorischen Epithels binden und von diesen aufgenommen werden. Darüber hinaus konnten sie nachweisen, dass es einen direkten Transport von der nasalen Mukosa in den Subarachnoidalraum gibt. Allerdings läuft dieser axonale Mechanismus sehr langsam ab, sodass die Anflutung im ZNS bis zu 24 Stunden dauert.

Im Gegensatz zu diesem langsamen axonalen Weg erreichen die Stoffe über den extrazellulären Mechanismus direkt die CSF. Nach der Verabreichung von intranasalem Insulin lässt sich bei gesunden Probanden bereits nach 10 Minuten (min) ein Anstieg des Insulinspiegels in der CSF nachweisen und nach 30 min ist der Maximalspiegel erreicht (Born, Lange, Kern, McGregor, Bickel & Fehm, 2002).

Dabei ist zu beachten, dass die intranasale Applikationsform von Insulin den Vorteil hat, dass auch bei hohen Dosen von bis zu 160 Internationalen Einheiten (IE) keine Hypoglykämie induziert wird. Der periphere Blutspiegel bleibt stattdessen im euglykämischen Bereich (Benedict et al., 2008). Somit ist es möglich, in Humanstudien unter Umgehung von hypoglykämischen Zuständen die direkten Effekte von Insulin im ZNS zu untersuchen.

1.3 Insulinwirkungen im ZNS: Effekte auf Nahrungsaufnahme und metabolische Parameter: Grundlagen

Insulin hat im ZNS eine Reihe von Effekten, die bis heute noch nicht vollständig verstanden sind. Im Folgenden wird ein kurzer Überblick über die für diese Arbeit relevanten Funktionen von zentralnervös verfügbarem Insulin auf die Nahrungsaufnahme und metabolische Parameter gegeben (Abbildung 2).

Da in dieser Arbeit untersucht wird, ob es nach der Insulingabe zu einer veränderten Nahrungs- bzw. Kalorienaufnahme kommt, wird die Steuerung der Nahrungsaufnahme

dargestellt (vgl. 1.3.1). Darüber hinaus werden die Effekte von Insulin auf den Glukosemetabolismus behandelt, da Glukose zum einen der wichtigste Energielieferant für das Gehirn ist und zudem auch Effekte von intranasal verabreichtem Insulin auf die periphere Insulinfreisetzung (im euglykämischen Bereich) und damit den peripheren Blutglukosespiegel gefunden wurden (Stockhorst, de Fries, Steingrueber & Scherbaum, 2011) (vgl. 1.3.2). Zudem deuten aktuelle Daten darauf hin, dass zentrales Insulin in Wechselwirkung mit dem Fettstoffwechsel steht (vgl. 1.3.3). Zusätzlich wird auf die Zusammenhänge zwischen Insulin und den Sexualhormonen eingegangen, um mögliche Ursachen für unterschiedliche Effekte bei männlichen vs. weiblichen Organismen darzustellen (vgl. 1.3.4).

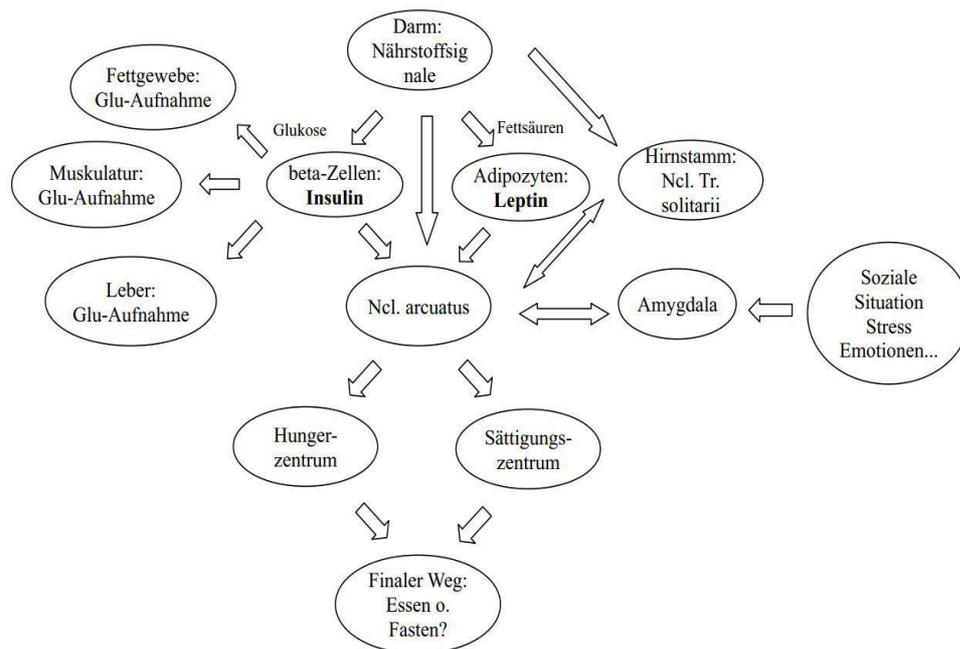


Abbildung 2. Gesamtübersicht über die Zusammenhänge zwischen den Adipositassignalen Insulin und Leptin und dem ZNS. Glu: Glukose, Ncl: Nucleus, Tr: Tractus.

1.3.1 Nahrungsaufnahme

Bei der Regulation der Nahrungsaufnahme wird allgemein differenziert zwischen der Limitierung der täglichen Nahrungszufuhr, der sogenannten Kurzzeitregulation, und der

Langzeitregulation, welche dem längerfristigen Erhalt des Körpergewichts dient. In beiden Fällen ist der Hypothalamus das zentrale Steuerungselement, in welchem die Informationen über den gegenwärtigen Energiebedarf und -speicher in Form von chemischen Signalen eintreffen (Gekle, 2005).

Die Kurzzeitregulation der Nahrungsaufnahme erfolgt durch eine Kombination verschiedener Mechanismen, die in Abbildung 2 zusammengestellt sind. Zum einen wird die nahrungsbedingte Dehnung des Magendarmtrakts über den Sympathikus und Afferenzen des Nervus vagus an den Nucleus tractus solitarii (NTS) und den Hypothalamus übermittelt. Zum anderen dienen verschiedene chemische Signale über die Stimulation des „Sättigungs-“ und die Hemmung des „Hungerzentrums“ der Steuerung des Hungergefühls. Zu diesen Botenstoffen gehören unter anderem Glukose, Cholezystokinin (CCK) und das pankreatische Peptid Tyrosyl-Tyrosin (PYY) (Gekle, 2005).

Um das Körpergewicht längerfristig aufrecht zu erhalten, benötigt der Hypothalamus als zentrales Steuerungselement fortwährend Information über die gegenwärtig vorhandenen Energiespeicher. Bei der Detektion der Signale kommt dem hypothalamischen Nucleus arcuatus eine wichtige Funktion zu (vgl. Abbildung 2). Die Konzentration entsprechender Botenstoffe muss sich also proportional zur Fettreserve verhalten (Gekle, 2005). Diese Voraussetzung wird sowohl von Insulin als auch von Leptin erfüllt (Shiraev, Chen & Morris, 2009). Daher sind beide Hormone an der Langzeitregulation der Nahrungsaufnahme beteiligt. Ihre jeweiligen Eigenschaften werden im folgenden kurz dargestellt.

- ♦ Insulin ist ein Peptidhormon, welches in den beta-Zellen des Pankreas synthetisiert und abhängig vom Blutzuckerspiegel ausgeschüttet wird. Ein Anstieg des Glukosespiegels im Blut über 5 mM führt zu einer Freisetzung von Insulin (Karhunen, Juvonen, Huotari, Purhonen & Herzig, 2008). Seine Funktion als peripheres Hormon besteht in der Kontrolle des Glukosespiegels und des -verbrauchs. Die, im Vergleich zu Leptin, verhältnismäßig kurze Halbwertszeit von 2-3 min ermöglicht es, fortlaufend ein aktuelles Bild der metabolischen Prozesse widerzuspiegeln. Die täglichen Fluktuationen im Insulinspiegel verhalten sich also direkt proportional zum gegenwärtig vorhandenen Körperfett, wobei die Insulinsekretion vor allem mit der viszeralen Fettmenge hoch korreliert (Clegg & Woods, 2004; Arble & Sandoval, 2013). Der periphere Plasma-Insulinspiegel korreliert dabei mit dem zentralen Insulinspiegel (Somogyi, Gyorffy, Scalise, Kiss, Goszleth, Bartha...Zsarnovszky, 2011).
- ♦ Neben Insulin liefert auch Leptin Informationen über den Fettspeicher an den Hypothalamus. Leptin wird von den Adipozyten gebildet und ist als lipophiles Hormon in der Lage, die BHS zu passieren, um an Rezeptoren im Bereich des Hypothalamus zu binden. Seine Expressions- und Sekretionsrate ist in den Adipozyten des

subkutanen Fettgewebes etwa 2-3 mal höher als in denen des viszeralen. Leptinspiegel korrelieren also im Gegensatz zu Insulin vor allem mit dem subkutanen Fettspeicher. Mit seiner relativ langen Halbwertszeit von 45 min ist Leptin darüber hinaus ein wesentlich stabilerer Indikator als Insulin und repräsentiert daher mehr die Aktivität der Fettzellen (Clegg & Woods, 2004; Arble & Sandoval, 2013).

Die Informationen über die gegenwärtig vorhandenen Fettspeicher gelangen also in Form von Leptin und Insulin zum Hypothalamus. Hier wirken die Neuropeptide als Auslöser einer Kaskade von Reaktionen, welche im Nucleus arcuatus ihren Ausgangspunkt haben (vgl. Abbildung 3).

- ♦ So führen die erhöhten Leptin- und Insulinspiegel im Nucleus arcuatus zu einer Stimulation der anorexigenen Neurone, welche Pro-opio-melanocortin (POMC) und Cocaine-and-amphetamine-regulated transcript (CART) bilden. Als Folge dieser Stimulation exprimieren die Neurone vermehrt POMC, welches das Vorläufermolekül für verschiedene Hormone ist. Zu diesen gehört das alpha-Melanozyten-stimulierende Hormon (alpha-MSH), welches über Projektionen zum Sättigungszentrum katabole Wirkung hat. Dementsprechend führt ein genetisches Ausschalten der Melanocortin-Rezeptoren bei Mäusen zu Übergewicht (Clegg & Woods, 2004; Figlewicz & Benoit, 2009; Schwartz, Woods, Porte, Seeley & Baskin, 2000; Porte Jr, Baskin & Schwartz 2002; Moran, Aja & Ladenheim, 2006).
- ♦ Gleichzeitig führen die erhöhten Insulin- und Leptinspiegel im Nucleus arcuatus zu einer Hemmung der orexigenen Neurone, die Neuropeptid Y (NPY) und Agouti-related Peptide Hormon (AgRP) bilden. AgRP seinerseits bindet an die Rezeptoren von alpha-MSH und antagonisiert so dessen katabole Wirkung. Durch die Hemmung der AgRP-Neurone ist ihre Expression vermindert, und dadurch der Antagonismus von alpha-MSH reduziert. Auch der anabole Effekt von NPY wird durch die erhöhten Insulin- und Leptinspiegel gehemmt (Clegg & Woods, 2004; Figlewicz & Benoit, 2009; Schwartz et al., 2000; Porte Jr. et al. 2002; Moran et al., 2006).

Als Fortsetzung dieser Kaskade verlaufen Projektionen vom Nucleus arcuatus zu anderen hypothalamischen Regionen, darunter an das „Sättigungs-“ und das „Hungerzentrum“.

- ♦ Das „Sättigungszentrum“ wird durch die hypothalamischen Nuclei paraventricularis (PVN) und ventromedialis (VMH) repräsentiert. Durch die Stimulation der POMC/CART-Neurone im Nucleus arcuatus wird vermehrt alpha-MSH ausgeschüttet. Dieses bindet an die Melanocortin-Rezeptoren Typ 3 und 4 (MC3/4-Rezeptoren), die sich in den Kernen des Sättigungszentrums sowie im lateralen und dorsomedialen Hypothalamus befinden. Alpha-MSH führt zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme

und einem gesteigerten Energieverbrauch. Darüber hinaus kommt es durch die Stimulation des Sättigungszentrums zu einer vermehrten Freisetzung von anorexigenen Hormonen, wie Oxytocin, Corticotropin-releasing Hormon (CRH), Thyreotropin Releasing Hormon (TRH) und CCK (Könner, Klöckner & Brüning, 2009; Wynne et al., 2005; Porte Jr. et al., 2002).

- Das „Hungerzentrum“ wird von der perifornikal Region und der lateralen hypothalamischen Region (Area) (LHA) gebildet. Die Neurone der LHA exprimieren die orexigenen Hormone Orexin und Melanin-concentrating Hormon (MCH). Beide bewirken eine gesteigerte Nahrungsaufnahme. Durch die erhöhten Leptin- und Insulinspiegel wird das Hungerzentrum allerdings gehemmt, sodass weniger Orexin und MCH ausgeschüttet werden und ihre anabole Wirkung dadurch reduziert wird (Wynne et al., 2005; Porte Jr. et al., 2002).

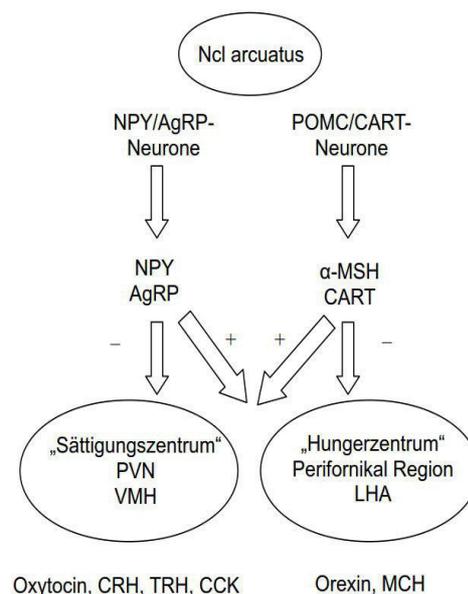


Abbildung 3. Projektionen vom Nucleus arcuatus zum „Sättigungs-“ und „Hungerzentrum“ (modifiziert nach Könner, Klöckner & Brüning 2009, S. 484). α -MSH: alpha-Melanozyten-stimulierendes Hormon, AgRP: Agouti-related Peptide Hormon, CART: Cocain and amphetamine regulated transcript, CCK: Cholecystokinin, CRH: Corticotropin-releasing Hormon, LHA: Area hypothalamica lateralis, MCH: Melanin-concentrating Hormon, Ncl: Nucleus, NPY: Neuropeptid Y, TRH: Thyreotropin Releasing Hormon, POMC: Pro-Opio-Melanocortin, PVN: Nucleus paraventricularis, VMH: Nucleus ventromedialis.

Insulin und Leptin haben somit als Neuropeptide katabole Effekte. Ihre Ausschüttung ins Plasma korreliert dabei mit der Menge an vorhandenem Körperfett, weshalb sie auch als Adipositassignale bezeichnet werden. Allerdings unterscheiden sie sich hinsichtlich des Fettdepots, mit dem sie korrelieren. Wie bereits erwähnt, steigt die Insulinkonzentration mit der Menge an viszeralem Fett, wohingegen Leptin abhängig von der subkutanem Fettmenge sekretiert wird (Clegg, Riedy, Smith, Benoit & Woods, 2003). Im Folgenden werden die beiden unterschiedlichen Typen des Fettgewebes mit ihren charakteristischen Eigenschaften kurz dargestellt.

- ♦ Zum einen gibt es das viszerale Fettgewebe. Im Vergleich zum subkutanen Fettgewebe weisen diese Fettdepots mehr Kapillaren sowie efferente Axone pro Volumen auf und drainieren in die hepatische Portalvene (Clegg & Woods, 2004). Neben diesen histologischen Merkmalen unterscheiden sich die Fettgewebe auch hinsichtlich ihres Metabolismus. So sind die viszeralen Adipozyten im Vergleich zu den subkutanen deutlich sensitiver für die Katecholamin-induzierte Lipolyse und weniger für die Insulin vermittelten antilipolytischen Effekte. Diese erhöhte lipolytische Aktivität ist assoziiert mit der vermehrten Zirkulation von freien Fettsäuren und in der Folge mit einer gesteigerten Glukoneogenese (Geer & Shen, 2009). Durch die bessere kapilläre Versorgung und die erhöhte metabolische Aktivitätsrate ergibt sich für die viszeralen Fettdepots der Vorteil, dass sie schneller mobilisiert werden können. Daher kommt es bei Gewichtsverlust initial immer zuerst zu einer Reduktion von intraabdominalen Fettdepots (Clegg & Woods, 2004). Von Nachteil ist die verminderte Insulinsensitivität der viszeralen Adipozyten, welches zur Folge hat, dass dieses Fettdepot assoziiert ist mit einem erhöhten Risiko für metabolische Komplikationen, wie Insulinresistenz, Diabetes mellitus Typ 2 und Übergewicht sowie kardiovaskulären Erkrankungen. Eine operative Entfernung von viszeralem Fett führt entsprechend zu verminderten Insulin- und Glukosespiegeln und senkt das Risiko für diese metabolische Komplikationen (Shi & Clegg, 2009a). Vergleicht man die Fettverteilung zwischen den Geschlechtern, weisen Männern vermehrt viszerales Fett auf. Die Ursache hierfür könnte evolutionär begründet sein. So sind die ursprünglich typisch männlichen Aufgaben (wie z. B. Jagen) mit einem kurzfristig sehr hohen Energieaufwand verbunden. Dies erfordert die schnelle Mobilisation von Energiereserven, was durch die hohe metabolische Aktivität des viszeralen Fettgewebes möglich ist (Shi & Clegg, 2009a).
- ♦ Dem gegenüber steht das subkutane Fettgewebe. Dieses ist im histologischen Vergleich weniger stark innerviert sowie vaskularisiert und zeigt einen größeren durchschnittlichen Zelldurchmesser (Shi & Clegg, 2009a). Der Metabolismus unterscheidet sich von dem des viszeralen Fettgewebes dahingehend, dass die

subkutanen Adipozyten sensitiver sind für die durch Insulin vermittelten antilipolytischen Effekte und niedrigere lipolytische Raten aufweisen. Im Vergleich zum viszeralen Fett hat das subkutane also den Vorteil einer höheren Sensitivität für Insulin und ist daher nur mit einem geringen Risiko für metabolische Störungen assoziiert. Eine Entfernung dieses Fetts kann daher aber auch metabolische Syndrome nicht verbessern (Shi & Clegg, 2009a). Von Nachteil ist die geringe lipolytische Aktivität, wodurch das subkutane Fett schlechter mobilisierbar ist. Im Gegensatz zu Männern verfügen prämenopausale Frauen vermehrt über subkutanes Fettgewebe. Ursächlich für diese Verteilung könnte die Eigenschaft dieses Fettgewebes sein, dass es durch die geringere lipolytische Aktivität eher für dauerhafte metabolische Herausforderungen (wie z. B. Schwangerschaft und Stillen) geeignet ist. Ein Beweis für diese These ist der Umstand, dass die Fettspeicherung während der Schwangerschaft vor allem subkutan erfolgt und diese Depots ihre lipolytische Aktivität während des Stillens erhöhen (Shi & Clegg, 2009a). Im Verlauf des Lebens ändert sich die weibliche Fettverteilung abhängig vom Östrogenspiegel. So entwickeln postmenopausale Frauen mit dem sinkenden Östrogenspiegel vermehrt viszerale Fettdepots. Diese Entwicklung lässt sich mit Hilfe von Östrogensatztherapie verhindern (Shi, Seeley & Clegg, 2009b). Östrogen scheint also protektiv gegen das viszerale Fett und damit metabolische Komplikationen zu wirken (Geer & Shen, 2009).

Einen eindrucksvollen Beleg für die differentielle Sensitivität des Gehirns für die zentralen Effekte von Insulin (bei männlichen Organismen) vs. Leptin (bei weiblichen Organismen) auf das Essverhalten liefert die tierexperimentelle Studie von Clegg, et al. (2003), die unter 1.4.2 dargestellt wird.

Mittels der beiden Adipositasignale ist eine komplexe Interaktion zwischen den vorhandenen Fettreserven und dem Hypothalamus als zentralem Steuerungselement in Interaktion auch mit den Sexualhormonen und dem Geschlecht des Individuums möglich. Dadurch ist der Organismus in der Lage, die Nahrungsaufnahme so zu regulieren, dass das Körpergewicht über ein längeres Intervall aufrecht erhalten werden kann.

In verschiedenen Tierexperimenten mit hochfetthaltigem Futter (Chan, Zhao & Heng, 2008; Kaiyala, Prigeon, Kahn, Woods & Schwartz, 2000) wurde untersucht, wie lange das Körpergewicht des Tiers mit Hilfe dieses Regulationsmechanismus konstant gehalten werden kann. Dazu erhielten die Tiere hochfetthaltiges Futter. In einem Zeitraum von zwei Wochen wurde dabei keine gesteigerte Nahrungsaufnahme beobachtet und das Körpergewicht blieb unverändert. Erreicht wurde dies über eine initiale Hochregulation und spätere Runterregulation von Genen, welche in die Fettsäureoxidation involviert sind. Dagegen zeigten die Gene der Lipogenese und Cholesterolsynthese die entgegengesetzten

Veränderungen (Chan et al, 2008). Erst nach einem Zeitraum von 4 bis 10 Wochen nahmen die Tiere mehr Futter zu sich. Parallel zu der entstehenden Gewichtszunahme wurde ein geringerer Quotient der CSF/Plasma-Insulin-Konzentration gemessen (Kaiyala et al, 2000). Auf Grundlage dieser Daten entwickelten die Forscher die These, dass die Ursache für eine gesteigerte Nahrungsaufnahme in einer reduzierten Effizienz der Insulinaufnahme ins ZNS liegt und dadurch das Sättigungszentrum weniger aktiviert wird. Um diese These zu prüfen, züchteten Forscher Mäuse, bei denen das Neuronen-spezifische Insulinrezeptor-Gen ausgeschaltet wurde (Brüning, Gautam, Burks, Gillette, Schubert, Orban...Kahn, 2000). Die so entstehende Spezies wird als NIRKO (Brain-specific insulin receptor knockout)-Mäuse bezeichnet. Diese Mäuse entwickeln eine ernährungsabhängige Adipositas mit einem erhöhten Körperfettanteil sowie erhöhten Leptin- und Insulin-Plasmaspiegeln. Eine Ursache für die Entwicklung von Übergewicht scheint also ein zentraler Insulinmangel zu sein.

Dieser Zusammenhang lässt sich auch beim Menschen nachweisen. So ist ein verminderter Quotient der ZNS/Plasma-Insulin-Konzentration beim Menschen mit einem erhöhten Körpergewicht assoziiert (Kern, Benedict, Schultes, Plohr, Moser, Born...Hallschmid, 2006). Neben dem Insulinspiegel ist auch eine relative Verminderung des Leptin-Spiegels in der CSF mit Übergewicht assoziiert (Figlewicz & Benoit, 2009; Seeley, von Dijk, Campfield, Smith, Burn, Nelligan...Schwartz, 1996).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Regulation der Nahrungsaufnahme einem komplexen Mechanismus unterliegt. Das zentrale Steuerungselement in diesem System ist der Hypothalamus und die dort vorhandenen Rezeptoren für die verschiedenen Hormone, die durch Insulin und Leptin Informationen über die gegenwärtigen Fettspeicher erhalten. Beide Hormone wirken im ZNS als Adipositassignale, wobei Insulin das typisch männliche, viszerale Fett widerspiegelt und Leptin für das eher weibliche, subkutane Fettgewebe steht. Es ist also wichtig, bei der Untersuchung nahrungsbezogener Effekte von Insulin im ZNS Männer und Frauen getrennt zu untersuchen.

1.3.2 Glukosemetabolismus

Wie bereits dargestellt, wird die Nahrungsaufnahme vom Energiebedarf und -speicher beeinflusst. Zur Deckung des Energiebedarfs besteht die durchschnittliche Ernährung in den Industrieländern zu 40-45% aus Kohlenhydraten. Innerhalb der Gruppe der Kohlenhydrate nimmt Glukose eine Sonderstellung ein, da es die wichtigste Energiequelle für den menschlichen Körper ist (Suter, 2008). In die Regulation des Glukosespiegels ist nicht nur Insulin als peripheres Hormon, sondern auch der Hypothalamus involviert. Auf Grund der zentralen Bedeutung von Glukose als Energielieferant wird im Folgenden ein Überblick über

die Regulation des Glukosemetabolismus gegeben.

Die über die Nahrung zugeführten Kohlenhydrate werden im Dünndarm absorbiert. Allerdings werden mit der normalen Ernährung nur geringe Mengen der wichtigen, freien Glukose aufgenommen, weshalb der menschliche Körper über einen komplexen Glukosestoffwechsel verfügt. Zu diesem gehört zum einen die Glykolyse, in der Glukose zur Gewinnung des Energielieferanten Adenosintriphosphat (ATP) abgebaut wird. Zum anderen ist die Glukoneogenese, also die Bildung von Glukose aus Kohlenhydratvorstufen, Bestandteil des Glukosestoffwechsels. Darüber hinaus kann Glukose in Form von Glykogen in der Muskulatur und der Leber gespeichert und bei Bedarf freigesetzt werden. Das dauerhafte Vorhandensein von Glukose im Blut ist erforderlich, da die Zellen des Gehirns, des Nebennierenmarks und die Erythrozyten auf Glukose als Energielieferant angewiesen sind. Die Zellen der übrigen Gewebe sind dagegen in der Lage bei Glukosemangel aus dem Fettstoffwechsel Energie zu gewinnen (Suter, 2008; Arble & Sandoval 2013).

Unter physiologischen Bedingungen ist Glukose also der Hauptenergielieferant des Gehirns. Die Aufnahme ins ZNS erfolgt mittels des Glukosetransporters Typ 1 (GLUT-1). Im Gegensatz zu anderen Geweben erfolgt dieser Transport über die BHS insulinunabhängig. Zwar konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, dass Insulin die *messenger Ribonukleinsäure* (mRNA) von GLUT-1 steigern kann, allerdings ist dieser Effekt vergleichsweise gering (Wozniak, Rydzewski, Baker & Raizada, 1993). Stattdessen reguliert die Glukosekonzentration selbst die Transportrate von GLUT-1 (Walker, Donovan, Van Ness, Fellows & Pessin, 1988).

Da das Gehirn auf Glukose als Energielieferant angewiesen ist, muss der Blutzuckerspiegel genauestens kontrolliert werden. Denn eine Hypoglykämie bedeutet für die Zellen des ZNS, dass sie ihren Energiebedarf nicht decken können. In der Folge ist die Funktionsfähigkeit der Zellen beeinträchtigt, was sich in Form von Bewusstseinsbeeinträchtigung bis hin zum Schock äußert. Reguliert wird der Blutzuckerspiegel durch Insulin, welches von den beta-Zellen des Pankreas sekretiert wird (vgl. 1.3.1). Dieses wirkt zum einen direkt auf die Zellen der peripheren Gewebe und zum anderen indirekt über den Hypothalamus. Die Mechanismen, welche zur Senkung des Blutzuckerspiegels führen, werden im Folgenden dargestellt.

- ♦ Das vom Pankreas ausgeschüttete Insulin senkt den Blutzuckerspiegel über zwei verschiedene Mechanismen. Zum einen führt es zu einer gesteigerten Transportrate des insulinabhängigen Glukosetransporters Typ 4 (GLUT-4) und damit zu einer vermehrten Glukoseaufnahme in die Muskel- und Fettzellen. Zum anderen induziert Insulin die Glykogensynthese und -speicherung in der Leber und der Muskulatur (Prodi & Obici, 2006).

- ♦ Auch zentral appliziertes Insulin scheint über die Aktivierung des Nucleus arcuatus des Hypothalamus eine wichtige Rolle bei der Regulation des peripheren Glukosemetabolismus zu spielen. So konnten Obici et al. (2002) nachweisen, dass die Infusion von Insulin oder einem kleinen Molekül eines Insulin-Mimetikums in den dritten Ventrikel männlicher Ratten die periphere Glukoseproduktion unabhängig vom Spiegel des zirkulierenden Insulins bzw. anderer glukoregulatorischer Hormone unterdrücken. Umgekehrt verschlechtert die zentrale Gabe eines Insulinantagonisten die Wirkung des peripheren Insulin auf die Glukoseregulation. Die für diesen Effekt zugrundeliegende Kaskade beginnt im Nucleus arcuatus, indem zentrales Insulin einen Signalweg induziert, an dem das Insulin-Rezeptor Substrat (IRS) und die Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) beteiligt sind. Am Ende des Signalwegs steht die Aktivierung des ATPsensitiven Kalium-Kanals (K_{ATP}) (Gerozissis, 2008). Über synaptische Verbindungen wird das hypothalamische Insulinsignal zum Nucleus ambiguus des Nervus vagus weitergeleitet. Von hier aus führen vagale Efferenzen zur Leber und inhibieren die hepatische Glukoneogenese durch Senkung der Expression der Glukose-6-Phosphatase und Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase (Obici et al., 2002; Prodi & Obici, 2006; Pocai, Lam, Gutierrez-Juarez, Obici, Schwartz, Bryan...Rossetti, 2005; Sánchez-Lasheras, Könnner & Brüning, 2010). Im Tierexperiment kann also eine alleinige Aktivierung des Insulinsignalwegs im Hypothalamus zu einer signifikanten Hemmung der hepatischen Glukoneogenese führen (Prodi & Obici, 2006). Gestützt wird dieser Befund durch ein Humanexperiment von Stockhorst et al. (2011). In dieser Konditionierungsstudie erhielten die gesunden männlichen Probanden an Tag 1 des zwei Tage umfassenden Experiments sechsmal (im Abstand von je 15 Minuten) 20 IE Insulin bzw. 0.2 ml Placebo. An Tag 2 erhielten alle Probanden Placebo. Bei der Untersuchung des peripheren Insulin- und Blutzuckerspiegels (jeweils als kumulierte Summe der Differenz zur Baseline) zeigte sich an Tag 1 (unkonditioniert) in der Insulingruppe ein signifikanter Insulinanstieg sowie eine signifikante Abnahme des Blutzuckerspiegels im euglykämischen Bereich. Auch an Tag 2 (konditioniert) ließ sich nach der Gabe von intranasalem Insulin im Vergleich zu Placebo ein signifikanter Insulinanstieg nachweisen. Auch die Abnahme des Blutzuckerspiegel blieb richtungsmäßig erhalten. Die Befunde stützen die Annahme, dass zentral verabreichtes Insulin im Sinne eines positiven Feedbacks die periphere Insulinausschüttung erhöht und damit auch zu einer Regulation des peripheren Glukosemetabolismus beitragen kann. Dabei lässt sich speziell die Insulinausschüttung auch konditionieren, was ein weiterer Nachweis für eine zentralnervös regulierte Insulinausschüttung ist.

Neben diesem ZNS-vermittelten Effekt auf den peripheren Blutzuckerspiegel, hat zentrales

Insulin auch Wirkung auf den Glukosemetabolismus im ZNS. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass es die Wiederaufnahme von Noradrenalin (NA) aus dem synaptischen Spalt hemmt und so den Neurotransmitterspiegel erhöht (Schulingkamp et al., 2000; Boyd, Clarke, Muther & Raizada, 1985). Dies führt wiederum zu einer vermehrten Aktivierung von beta-Adrenorezeptoren und damit gesteigerten Spiegeln von zyklischem Adenosinmono-phosphat (cAMP). cAMP selbst aktiviert die Glykogenolyse in den Gliazellen, wodurch vermehrt Glukose freigesetzt und für die neuronalen Zellen verfügbar wird. Diese durch Insulin induzierte, vermehrte Glukosemobilisation konnte vor allem in hypothalamischen Regionen nachgewiesen werden, welche mitbeteiligt sind an der Gedächtnisbildung (Lucignani, Namba, Nehlig, Porrino, Kennedy & Sokoloff, 1987). Im Einklang mit dieser vermehrten Glukosefreisetzung konnten Hoyer, Prem, Sorbi und Amaducci (1993) nachweisen, dass zentrales Insulin im Gehirn zu einer Stimulation der Glykolyse-Schlüsselenzyme führt. Hierdurch kann die unter Insulin vermehrt freigesetzte Glukose in den universellen Energieträger ATP umgewandelt werden. Während peripheres Insulin also dafür sorgt, dass Glukose aus dem Plasma entfernt wird, führt zentrales Insulin zu einer vermehrten Freisetzung und Verwendung von Glukose im ZNS.

Zentrales Insulin hat also eine Vielzahl von Effekten auf den Glukosestoffwechsel, wobei die Wirkung auf den zentralen Glukosemetabolismus im Widerspruch steht zu den Effekten auf den Blutzuckerspiegel. Die Ursache hierfür ist bis heute noch nicht völlig verstanden.

Neben zentralem Insulin konnte auch für zentrales Leptin Effekte auf den Glukosemetabolismus nachgewiesen werden. Dabei wird unterschieden zwischen Melanokortin-abhängigen Mechanismen, welche zur Steigerung der hepatischen Glukoneogenese führen, und Melanokortin-unabhängigen, die einhergehen mit einer verminderten Glykogenolyse. Die genaue neuronale oder molekulare Verbindung zwischen zentralem Leptin und der Leber sind bis heute noch nicht vollständig verstanden (Prodi & Obici, 2006).

1.3.3 Fettstoffwechsel

Es ist bekannt, dass peripheres Insulin auf Fettsäurestoffwechselfvorgänge Einfluss nehmen kann. So steigern erhöhte Plasma-Insulin-Spiegel im Anschluss an die Nahrungsaufnahme die Aufnahme von Glukose und Fettsäuren in die Fettzelle, wodurch die Lipogenese (Triacylglycerine [TAG]-Biosynthese) induziert wird. Gleichzeitig senkt Insulin den Spiegel von cAMP in der Fettzelle, welches als Hungersignal für die Aktivierung der Lipolyse (TAG-Hydrolyse) erforderlich ist. Der periphere Insulin-Spiegel und der Fettstoffwechsel scheinen sich also in einer Art Wechselbeziehung zu befinden, sodass Insulin metabolische Prozesse

beeinflussen kann.

Tierexperimentelle Daten deuten darauf hin, dass auch zentrales Insulin auf Fettstoffwechselforgänge Einfluss nimmt. Iwen, Scherer, Heni, Sayk, Wellnitz, Machleidt...Hallschmid (2014) untersuchten daher die Effekte von intranasalem Insulin auf den Fettstoffwechsel beim Menschen. Die Gabe von 160 IE intranasalem Insulin führte bei den gesunden männlichen und weiblichen Probanden im Vergleich zur Placebogruppe zu einer Reduktion des Spiegels an freien Fettsäuren und Glycerin, welche beide im Rahmen der Lipolyse freigesetzt werden. Die Autoren lieferten in ihrer Arbeit somit erstmals einen Beleg dafür, dass die Gabe von intranasalem Insulin zu einer Hemmung der Lipolyse führt – bei unveränderten Plasmaspiegeln von Insulin, C-Peptid, Glukose und Glukagon. Die Wirkung von zentralem Insulin auf das Fettgewebe wird dabei vermutlich über zwei Wege gesteuert. Zum einen durch eine direkte Bindung von Insulin an einen Insulinrezeptor an der Fettzelle, was eine Senkung des cAMP-Spiegels (Aktivator der Lipolyse) zur Folge hat, und zum anderen indirekt durch eine Hemmung des sympathischen Nervensystems (Scherer, O`Hare, Diggs-Andrews, Schweiger, Cheng, Lindtner...Buettner, 2013).

Neben dem Fettgewebe hat auch die Leber eine zentrale Rolle im Fettstoffwechsel. Gancheva, Koliaki, Bierwagen, Nowotny, Heni, Fritsche...Roden (2015) untersuchten daher die Wirkung von intranasalem Insulin auf die hepatische Insulin-Sensitivität sowie den Energie- und Lipidstoffwechsel an gesunden jungen Probanden sowie an älteren und übergewichtigen Typ 2 Diabetikern. Die Autoren konnten zeigen, dass intranasales Insulin bei gesunden jungen Probanden zu einer Anregung des hepatischen Energiestoffwechsels (in Form von vermehrter ATP-Freisetzung) und zu einer Senkung der Fetteinlagerung (in Form von hepatozellulären Lipiden [HCL]) führt, ohne dass die hepatische Insulin-Sensitivität unter Nüchternbedingung beeinflusst wurde. Dieser Effekt trat dabei ausschließlich nach intranasaler Insulingabe auf und konnte nicht durch eine intravenöse Insulingabe erreicht werden. Bei den untersuchten übergewichtigen Typ 2 Diabetikern konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden. Die Autoren vermuten, dass diese fehlende Wirkung von intranasalem Insulin durch eine zentrale Insulin-Resistenz zustande kommt, welche mit Übergewicht assoziiert ist (Hallschmid, Benedict, Schultes, Born & Kern, 2008; vgl. auch 1.6).

Zusammenfassend gibt es aktuelle Daten, die darauf hinweisen, dass neben dem peripheren auch zentrales Insulin in Wechselwirkung mit dem Fettstoffwechsel steht. Bei Stoffwechselgesunden führt zentrales Insulin im Fettgewebe zu einer Hemmung der Lipolyse sowie in der Leber zur Senkung der Fetteinlagerung in Form von HCL.

1.3.4 Reproduktion und Sexualhormone

Insulin hat, wie bereits dargestellt, Effekte auf das Nahrungsverhalten, welche abhängig sind von der Fettverteilung. Da die Fettverteilung auch durch die Sexualhormone geprägt wird, wird im Folgenden ein Überblick über die bekannten Zusammenhänge zwischen zentralem Insulin und den Sexualhormonen gegeben.

In der bereits erwähnten Studie mit NIRKO-Mäusen (Brüning et al., 2000) konnte gezeigt werden, dass zentrales Insulin, neben seinen Effekten auf das Nahrungsverhalten und den Glukosemetabolismus, auch Effekte auf die Reproduktion hat. So zeigten Brüning et al. (2000), dass Mäuse mit dem inaktivierten, neuronenspezifischen Insulinrezeptor eine beeinträchtigte Spermatogenese bzw. ovarielle Follikelreifung haben. Ursächlich hierfür ist bei beiden Geschlechtern eine verminderte Ausschüttung des Luteinisierenden Hormons (LH). LH, welches beim männlichen Geschlecht auch als „interstitial cell stimulation hormone spermatogenese (ICSH)“ bezeichnet wird, ist gemeinsam mit dem Follikelstimulierenden Hormon (FSH) für die Spermatogenese bzw. Follikelwachstum und -reifung sowie die Freisetzung der Sexualhormone verantwortlich. Auf welche Weise zentrales Insulin die LH-Ausschüttung beeinflusst, ist bis heute noch nicht geklärt. Es wird aber vermutet, dass es im Hypothalamus die Bildung und Ausschüttung des Gonadotropin Releasing-Hormons (GnRH) beeinflusst, welches in der Hypophyse die Sekretion der Gonadotropine LH und FSH reguliert.

Die Expression des zentralen Insulinrezeptors scheint also essentiell für die Regulation der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden Achse zu sein und ist damit indirekt auch an der Freisetzung der Sexualhormone Östrogen und Testosteron beteiligt.

Darüber hinaus gibt es weitere Zusammenhänge zwischen den Adipositassignalen und den Sexualhormonen, speziell dem Östrogen. Der Hauptbildungsort für Östrogen sind die Ovarien, darüber hinaus wird es in der Plazenta und der Nebennierenrinde (NNR) sowie zu einem geringen Anteil in den Hoden gebildet. Die Menge an zirkulierendem Hormon steigt dabei, ebenso wie die Adipositassignale, proportional zum vorhandenen Körperfett. Ein erhöhter Östrogenspiegel geht dabei einher mit einer erhöhten Menge an subkutanem Fett (Clegg & Woods, 2004). Daraus resultiert die geschlechtsspezifische Körperfettverteilung (vgl. 1.3.1):

- ♦ Männer weisen im Vergleich allgemein niedrigere Östrogenlevel auf und durchschnittlich weniger Fett, welches hauptsächlich viszeral vorkommt (Shi et al., 2009b).
- ♦ Prämenopausale Frauen haben entsprechend deutlich höhere Östrogenlevel und insgesamt mehr Fett, welches sich subkutan vor allem im Bereich der Oberschenkel

anreichert (Shi et al., 2009b).

- ♦ Bei postmenopausalen Frauen ändert sich die Fettverteilung mit den sinkenden Östrogenspiegeln hin zu vermehrten viszeralen Fettdepots. Dieser Prozess lässt sich durch Östrogensersatztherapie wieder umkehren (Shi et al., 2009b).

Entsprechend dieser unterschiedlichen Fettverteilung reagieren Männer sensitiver auf Insulin als Adipositassignal, da dieses das viszerale Fett widerspiegelt, und Frauen entsprechend auf Leptin, welches mit dem subkutanen Fettdepot korreliert (vgl. 1.3.1). Diese geschlechtsspezifische Sensitivität für die beiden Adipositassignale kann von den Sexualhormonen reguliert werden. So inhibiert Östrogen den Insulin-Effekt auf die Nahrungsaufnahme und potenziert den entsprechenden Effekt von Leptin (Begg & Woods, 2013).

- ♦ Entsprechend lässt sich bei ovariectomierten Frauen eine Verminderung der zentralen Leptinsensitivität unabhängig vom Körpergewicht nachweisen. Diese lässt sich durch periphere oder zentrale Östrogensersatztherapie wieder erhöhen (Clegg, Brown, Woods & Benoit, 2006; Butera, 2010).
- ♦ Bei Männern ist der Mangel an Testosteron assoziiert mit Insulinresistenz und einer erhöhten Sensitivität für zentrales Leptin (Clegg et al., 2006). Wobei sich auch hier die Insulinsensitivität nach Zufuhr des fehlenden Sexualhormons verbessert (Geer & Shen, 2009).
- ♦ Neben Testosteron scheint aber auch Östrogen bei beiden Geschlechtern Einfluss auf die Insulinsensitivität zu nehmen. So sinkt die Sensitivität bei Frauen zu Beginn der Menopause und kann durch die Gabe von Östrogen verbessert werden. Bei Männern führt ein komplettes Fehlen von Östrogen zur Insulinresistenz (Geer & Shen, 2009; Butera 2010).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Sexualhormone Effekte haben auf die geschlechtsspezifische Sensitivität bezüglich der Adipositassignale. Bis heute ist noch unklar, wie die Sexualhormone zentral diesen Einfluss haben können. Im Fall von Östrogen wird vermutet, dass es über eine benachbarte Lokalisation der zentralen Rezeptoren Einfluss auf die Leptinwirkung hat (Clegg et al., 2006).

Um den wirkungsmodifizierenden Effekt von zentralem Insulin durch Östrogen zu untersuchen, wurden in der hier durchgeführten Studie in der Gruppe der Frauen nur solche aufgenommen, die keine hormonelle Verhütung vornehmen und bei allen Probanden (Frauen und Männer) wurde der Plasmaöstrogenspiegel gemessen. Somit kann verglichen werden, ob es bei den insulinbehandelten Frauen im Vergleich zur Placebokontrollgruppe zu Veränderungen des Essverhalten kommt, die im Zusammenhang mit der Höhe des

Östrogenspiegels stehen.

1.4 Katabole Effekt zentral wirksamen Insulins auf Nahrungsaufnahme: Tier- und Humandaten

Da diese Arbeit die Effekte von intranasalem Insulin auf das Ernährungsverhalten unter laborexperimentellen Bedingungen und auch unter natürlichen Bedingungen, also außerhalb einer experimentellen Laborsituation, untersucht, wird im Folgenden die bisherige Studienlage zu den Effekten von intraventrikulär oder intranasal verabreichtem Insulin auf die Nahrungsaufnahme im Tier- und Humanbereich dargestellt.

1.4.1 Tierexperimente zur chronischen zentralen Insulingabe

Mittels osmotischer Minipumpe ist die kontinuierliche Applikation von Insulin z. B. in den dritten Ventrikel von Tieren möglich. In verschiedenen Studien konnte so nachgewiesen werden, dass es ab einer Dosis von 10 μE pro Kilogramm (kg) Körpergewicht (KG) und Tag (d) bei männlichen Ratten oder Pavianen zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme und nach einem Zeitraum von mindestens einer Woche auch des Gewichts kommt. Mit steigender Insulindosis (bis zu 100 $\mu\text{E}/\text{kg}/\text{d}$) wurde der Effekt der Gewichtsabnahme deutlicher. Bei Dosen unterhalb von 10 $\mu\text{E}/\text{kg}/\text{d}$ zeigte sich dagegen keine Veränderung der Nahrungsaufnahme. Eine Woche nach Beendigung der Insulininfusion normalisierte sich das Körpergewicht bei allen Tieren wieder (Woods, Lotter, McKay & Porte, 1979; Brief & Davis, 1984).

Neben der aufgenommenen Nahrungsmenge (in Kilokalorien) ist auch die Zusammensetzung dieser aus den drei Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß eine weitere wichtige Komponente des Essverhaltens (vgl. 1.5.2). Chavez, Riedy, van Dijk und Woods (1996) untersuchten erstmals in ihrem Versuchsaufbau die Wirkung von zentralem Insulin auf die Aufnahme der Makronährstoffe bei männlichen Ratten. Den Tieren wurde hierzu 10 mE Insulin pro Tag in das zerebroventrikuläre System infundiert und das anschließende Essverhalten über einen Zeitraum von 6 Tagen beobachtet. In dem untersuchten Zeitraum hatten die Ratten die Wahlmöglichkeit zwischen den Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß. Im Vergleich zur Placebogruppe zeigten die Tiere der Insulingruppe am Ende der 6 Tage eine signifikant verminderte Aufnahme an Fett sowie eine Reduktion des Körpergewichts.

Die chronische Applikation von Insulin ins ZNS bei männlichen Tieren führt also zu einer

signifikanten Reduktion der Nahrungsaufnahme und des Fettanteils einhergehend mit einer Abnahme des Gewichts, welche sich nach Beendigung der Gabe nach einigen Tagen wieder normalisiert.

1.4.2 Tierexperimente zur akuten zentralen Insulingabe

Zu Beginn der Untersuchungen der Effekte zentralen Insulins auf das Essverhalten wurden im Regelfall Versuche gewählt, in denen Insulin mit sogenannten Minipumpen über einen Zeitraum von ein bis zwei Wochen appliziert wurde. Erst später wurde der akute Effekt einer einzelnen Insulingabe mit Hilfe intraventrikulärer Injektionen betrachtet.

Air, Benoit, Smith, Clegg und Woods (2002) konnten mittels Injektionen in den dritten Ventrikel von männlichen Ratten nachweisen, dass bereits eine einmalige Insulingabe die Nahrungsaufnahme beeinflussen kann. In dem Versuchsaufbau erhielten die in Gruppen aufgeteilten Ratten randomisiert 1, 4 oder 8 mIE Insulin eine bzw. vier Stunden vor der Haupttagesmahlzeit. Eine Konzentration von 1 mIE Insulin hatte dabei nur geringe Effekte auf die Nahrungsaufnahme, wohingegen es bei Konzentration von 4 und 8 mIE Insulin zu einer deutlichen Reduktion der Nahrungsaufnahme kam. Dabei spielte es keine Rolle, ob die Insulingabe ein oder vier Stunden vor Einnahme der Mahlzeit gegeben wurde. Lediglich die Höhe der Insulinkonzentration modifizierte den Effekt. Die Normalisierung der Nahrungsaufnahme erfolgte innerhalb von 24h. Diese Daten zeigen, dass eine einzelne intraventrikuläre Insulininjektion ausreicht, um die Nahrungsaufnahme bei männlichen Tieren zu reduzieren.

Neben der Nahrungsmenge kann auch die Makronährstoffzusammensetzung derselbigen durch eine einmalige Insulingabe beeinflusst werden. Van Dijk, de Groote, Chavez, van der Werf, Steffen und Strubbe (1997) infundierten hierzu 4 µIE Insulin oder Placebo in den Nucleus arcuatus oder Nucleus paraventricularis von Ratten und beobachteten anschließend das Essverhalten der Tiere bzgl. Gesamtkalorienaufnahme und Makronährstoffverteilung (Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß). Sie konnten zeigen, dass nach einem Zeitraum von einer Stunde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der untersuchten Merkmale zwischen den Substanzgruppen besteht. Nach einem Zeitraum von 21 Stunden zeigte sich jedoch, dass die Ratten der Insulingruppe, welche die Infusion in den Nucleus arcuatus erhielten, im Vergleich zur Placebogruppe signifikant weniger Fett zu sich nahmen. Die aufgenommene Gesamtkalorienmenge blieb dabei unverändert, durch eine nicht-signifikante Steigerung der Kohlenhydrataufnahme.

Um die geschlechtsspezifischen Unterschiede hinsichtlich der Sensitivität für die

Adipositassignale zu untersuchen, stellten Clegg et al. (2003) einen Versuchsaufbau auf, in dem sie die katabolen Effekte einer intracerebroventrikulären Bolusinjektion von Insulin bzw. Leptin zwischen männlichen und weiblichen Ratten verglichen. Die Gabe von Leptin führte bei beiden Geschlechtern zu einer kurzfristigen Reduktion der Nahrungsaufnahme in einem Zeitraum von 4 Stunden. Allerdings war nur bei den Weibchen auch eine Abnahme der 24-h-Nahrungsaufnahme zu verzeichnen. Eine entsprechende Abnahme der Gesamttagesaufnahme konnte bei den Männchen durch Insulingabe erzielt werden. Diese Daten bestätigen also die Annahme, dass Weibchen sensitiver auf Leptin als Adipositassignal reagieren und Männchen auf Insulin.

Um die Ursache für diese unterschiedliche Sensitivität zu untersuchen, haben Clegg et al. (2003) den Ratten in einem weiteren Experiment einen Melanocortin Agonisten (MT II) verabreicht. MT II ist ein Agonist von alpha-MSH, welches im Sättigungszentrum an die MC3/4-Rezeptoren bindet und zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme führt (vgl. 1.3.1). Bei dem Versuch reagierten beide Geschlechter mit gleicher Sensitivität auf die MT II-Gabe. Hieraus lässt sich folgern, dass die Ursache für die geschlechtsspezifische Sensitivität gegenüber diesen beiden Adipositassignalen bereits vor dem Sättigungszentrum des Hypothalamus liegen muss.

Eine mögliche Ursache könnte die Beeinflussung durch die gonadalen Hormone Östrogen und Testosteron sein (vgl. 1.3.3). Dazu untersuchten Clegg et al. (2006) die Wirkung von intraventrikulär appliziertem Insulin und Leptin bei unterschiedlichen Gruppen von Ratten. Zu diesen gehörten normale Weibchen und Männchen, ebenso wie ovariectomized bzw. kastrierte Ratten sowie Männchen, welchen Östrogen verabreicht wurde. Clegg et al. (2006) fanden heraus, dass die Gruppen, welche einen relativ hohen systemischen Östrogenspiegel aufwiesen, sensitiver auf die anorexigene Leptinwirkung reagierten, wohingegen Insulin keine Effekte auf die Nahrungsaufnahme hatte. Einen solch hohen Östrogenspiegel wiesen neben den normalen Weibchen auch die kastrierten Männchen auf, sowie die östrogenbehandelten männlichen Ratten. Entsprechend zeigten die Gruppen mit reduzierten Östrogenspiegel eine geringere Leptinsensitivität und stattdessen eine erhöhte Sensitivität für Insulin. Zu diesen Gruppen gehörten die normalen Männchen und die ovariectomized Weibchen. Diese Daten bestätigen die Annahme, dass hohe Östrogenspiegel mit einer gesteigerten Leptin- und einer verminderten Insulinsensitivität einhergehen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass eine einzelne intraventrikuläre Insulininjektion bei Tieren ausreicht, um die Nahrungsaufnahme zu reduzieren. Allerdings muss zwischen den Geschlechtern differenziert werden. So reagieren nur männliche Ratten und ovariectomized Weibchen mit verminderten Östrogenspiegel auf die Insulingabe mit einer Reduktion der Nahrungsaufnahme. Gesunde Weibchen und Männchen mit künstlich

erhöhten Östrogenspiegeln reagieren dagegen auf Leptin sensitiv mit einer Reduktion der Nahrungsaufnahme.

1.4.3 Humanexperimente zur intranasalen Insulingabe

Die Entdeckung des intranasalen Transportwegs für Substanzen ermöglicht es auch im Humanexperiment die Effekte von zentralem Insulin zu untersuchen (vgl. 1.2). Hierbei kann ebenfalls differenziert werden zwischen der Wirkung unter Langzeitgabe und nach akuter Applikation.

In einer entsprechenden Studie zur Langzeitgabe von Insulin konnten Hallschmid, Benedict, Schultes, Fehm, Born und Kern (2004) bei Menschen Veränderungen der Nahrungsaufnahme nachweisen, die vergleichbar sind mit den Ergebnissen aus den Tierexperimenten. Die männlichen und weiblichen Probanden erhielten dazu über einen Versuchszeitraum von acht Wochen vier mal täglich jeweils vor den Mahlzeiten 40 IE Insulin intranasal. Am Ende der Versuchszeit wiesen die männlichen Probanden eine Reduktion des Körpergewichts und Körperfetts auf. Der durchschnittliche Body-Mass-Index (BMI) von 22,6 kg/m² sank um 0,38. Nach vier bis fünf Monaten hatten alle Probanden ihr Ausgangsgewicht wieder erreicht. Bei den weiblichen Probanden kam es dagegen zu keiner Reduktion der Nahrungsaufnahme, stattdessen stieg ihr Körpergewicht durch die Einlagerung von Körperwasser an. Diese Daten, dass Männer sensitiv auf Insulin als Adipositassignal reagieren und Frauen nicht, decken sich mit den Ergebnissen aus den Tierexperimenten.

Auch der Effekt einer akuten Insulingabe auf das Nahrungsverhalten wurde bereits in Studien untersucht. Benedict et al. (2008) gaben dazu ihre Probanden 80 min nach der Gabe von insgesamt 160 IE Insulin die Möglichkeit an einem standardisierten Frühstückbuffet so viel zu essen wie sie wollten. Dabei stellten sie fest, dass Männer, welche vorher Insulin erhielten, im Durchschnitt 200 Kilokalorien (kcal) weniger konsumierten als die entsprechende Placebogruppe. Bei Frauen hingegen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen Placebo- und Insulingruppe. Hinsichtlich der prozentualen Zusammensetzung dieser Testmahlzeit aus Kohlenhydraten, Fett und Proteinen im Bezug auf die Gesamtkalorienmenge gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Insulin hat bei Männern also bereits bei der Einmalgabe einen nahrungsreduzierenden Effekt.

Um das geschlechtsspezifische Wirkungsprofil von Insulin genauer zu untersuchen, haben Stockhorst, Blicke, Folly, Romanova & Scherbaum (to be submitted) und Blicke (2009) in einer DFG-geförderten Studie (DFG STO 323/1-2) als Experiment 1 ein Studiendesign gewählt, in welchem den Probanden in einem Zeitraum von 160 min insgesamt sechs mal 20

IE Insulin bzw. Placebo intranasal und somit in einer kumulierten Gesamtdosis von 120 IE verabreicht wurde. Es wurden männliche und weibliche Probanden untersucht, wobei die weiblichen Probanden keine oralen Kontrazeptiva einnahmen und somit einen physiologischen Zyklus durchliefen. Die hier in der vorliegenden Arbeit analysierten Daten sind ebenfalls Teil dieses Experiments 1 des DFG-Projekts. Wie erwartet, konsumierten die männlichen Probanden unter Insulingabe signifikant weniger Kalorien als unter Placebo. Die Frauen hingegen konsumierten tendenziell mehr Kalorien ($p < 0.10$) unter Insulin im Vergleich zu Placebo. Wurden Frauen zusätzlich danach aufgeteilt, ob sie sich in der Follikel- und der Lutealphase befanden, nahmen die Frauen, welche sich in der Lutealphase befanden, also entsprechend höhere Östrogenspiegel hatten, und Insulin erhielten tendenziell mehr Kalorien zu sich als die Probandinnen der Placebokontrollgruppe.

In den bestehenden Humanexperimenten konnten folglich die Erwartungen, welche sich aus den Ergebnissen der Tierexperimente ergeben haben, bestätigt werden. So führt die einmalige Insulingabe bei Männern zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme und bei dauerhafter Applikation über Wochen auch zu einer Verminderung des Körpergewichts. Bei Frauen hingegen reduziert Insulin die Nahrungsaufnahme nicht, sondern es ergeben sich sogar Hinweise auf höhere Nahrungsaufnahmen nach akuter Gabe (Stockhorst et al., to be submitted) bzw. Anstiege des Körpergewichts nach langfristiger Gabe (Hallschmid et al., 2004). Die bisher publizierten Studien konzentrieren sich dabei auf die Effekte von Insulin unter standardisierten Laborbedingungen. Wie das Essverhalten außerhalb der Versuchssituation unter natürlichen Bedingungen beeinflusst wird, ist bis jetzt nicht untersucht worden und wurde deshalb in dem o.g. DFG-Projekt im Rahmen von Teilfragestellungen untersucht, die Gegenstand der vorliegenden Dissertation sind.

1.5 Natürliches Essverhalten

Diese Arbeit untersucht die Effekte von Insulin auf das Essverhalten unter natürlichen Bedingungen (mittels Ernährungstagebuch) und nutzt zudem Daten zum Essverhalten unter Laborbedingungen im Rahmen einer standardisierten Testmahlzeit (vgl. Blicke, 2009). Im Folgenden werden daher die wichtigsten Methoden zur Untersuchung des Essverhaltens unter solch natürlichen Bedingungen und die gewonnenen Erkenntnisse dargestellt.

1.5.1 Erfassungsmethoden

Es gibt verschiedene Methoden zur Erfassung des Essverhaltens, von denen die am

häufigsten verwendeten im Folgenden kurz dargestellt werden.

- ♦ Mit Fragebögen zur Mahlzeitfrequenz (*food frequency*) wird die Häufigkeit des Konsums von bestimmten Lebensmitteln in einem vorgegebenen Zeitraum erfasst. Merkmale, wie z. B. die Zubereitungsart, werden dabei aber in der Regel nicht erfasst. Vorteil dieser Befragung ist, dass die tägliche Nahrungsaufnahme abgeschätzt werden kann und Veränderungen der Essverhaltens sowie Vorlieben für bestimmte Nahrungsmittel erfasst werden können. Nachteilig ist dagegen, dass Details zur täglichen Aufnahme nicht erfasst werden können und auch die Quantifizierung erschwert ist (Thompson & Byers, 1994).
- ♦ Eine Alternative hierzu ist die 24-h-Ernährungsabfrage (*The 24-Hour Dietary Recall*), bei der sich der Proband erinnern soll, was er in den letzten 24 Stunden konsumiert hat. Diese Befragung hat den Vorteil, dass sie sehr schnell durchführbar ist und auf Grund der geringen Belastung für den Probanden auch große Populationen erfasst werden können. Allerdings ist das Ergebnis stark abhängig von der Interviewsituation und die Angaben werden abhängig vom individuellen Erinnerungsvermögen verfälscht (Thompson & Byers, 1994).
- ♦ Die genaueste Erfassung erfolgt mit Hilfe des Ernährungstagebuchs (*Dietary Recall*), welches in der Regel über einen Zeitraum von 3-4 Tagen kontinuierlich geführt wird. Die Befragten notieren dabei über den Tag hinweg alle Nahrungsmittel, die konsumiert wurden. Zur adäquaten Beschreibung des Nahrungsmittels gehört neben der Bezeichnung auch die Zubereitungsart und die Portionsgröße in haushaltsüblichen Mengenangaben (wie z. B. Teelöffel oder Tassen). Diese Erfassung hat gegenüber den anderen beiden den Vorteil, dass die Angabe der Nahrungsmittel quantitativ korrekt erfolgt. Vom Nachteil ist dagegen der hohe zeitliche Aufwand und die erforderliche Kooperation der Probanden, so dass nicht jede Population für diese Erfassung geeignet ist. In der Durchführung der Ernährungstagebücher zeigt sich, dass mit der steigenden Anzahl von Befragungstagen die Zahl der unvollständig geführten Protokolle steigt. Es wird daher typischerweise ein Untersuchungszeitraum von drei Tagen gewählt, da es hierbei keinen signifikanten Unterschied in der Qualität der Protokolle gibt (Toeller, Buyken, Heitkamp, Milne, Klischan & Gries, 1997). Dabei ist allerdings zu beachten, dass die Auswertung der Tagebücher aufwendig ist, da es große qualitative Unterschiede zwischen der Datengüte der Befragten gibt (Thompson & Byers, 1994).

In dieser Studie wird zur Erfassung der Nahrungsaufnahme das Ernährungstagebuch verwendet, denn diese Methode liefert klare, komplexe und reproduzierbare Ergebnisse über die konsumierten Nahrungsmittel. Es wird über drei Tage geführt.

1.5.2 Komponenten des Essverhaltens

1.5.2.1 Gesamtkalorienaufnahme und zeitliche Verteilung

Verschiedene Studien haben mit Hilfe von Ernährungstagebüchern (vgl. 1.5.1) das Essverhalten untersucht. Neben der aufgenommenen Menge lassen sich die Häufigkeit und die zeitliche Verteilung der Mahlzeiten über den Tag (das sog. *Meal pattern*), sowie deren Zusammensetzung aus den Makronährstoffen Kohlenhydrate, Proteine und Fette bestimmen. Bisher ist unbekannt, ob zentral wirksames Insulin neben der Nahrungsmenge auch differentiellen Einfluss auf diese Komponenten des Essverhaltens beim Menschen hat. Im Folgenden wird daher ein kurzer Überblick über die wichtigsten Erkenntnisse zum *Meal pattern* gegeben, wobei die Rolle der Makronährstoffe bei der Ernährungszusammensetzung unter 1.5.2.2 gesondert dargestellt wird.

- ♦ Über den Tag verteilt nehmen Menschen im Durchschnitt 3,7 Mahlzeiten zu sich. Diese werden in der Regel eingeteilt in die drei Hauptmahlzeiten Frühstück, Mittag- und Abendessen sowie gelegentliche Zwischenmahlzeiten (Bernstein, Zimmermann, Czeisler & Weitzman, 1981).
- ♦ Die Menge (gemessen in kcal), die während einer Mahlzeit konsumiert wird, variiert dabei mit der Tageszeit. Die größte Energieaufnahme in Form von Kohlenhydraten und Fetten erfolgt mittags zwischen 12-13 Uhr und abends zwischen 18-20 Uhr. Im Gegensatz hierzu bleibt die Menge an konsumierten Proteinen über den Tag hinweg weitestgehend konstant (De Castro, 1987).
- ♦ Differenziert man bei der Untersuchung des Essverhaltens zwischen den Geschlechtern, zeigt sich, dass Männer insgesamt mehr Kilokalorien zu sich nehmen als Frauen. Auch der Zeitpunkt der größten Energieaufnahme unterscheidet sich etwas. Während die Männer vor allem in der ersten Tageshälfte viel zu sich nehmen und gegen Abend immer weniger, tendieren Frauen dazu, im Verlauf des Tages ihre Nahrungsaufnahme zu steigern und so abends die meisten Kalorien zu konsumieren. Hinsichtlich der Anzahl der Mahlzeiten oder der Ernährungszusammensetzung aus den drei Makronährstoffen gibt es zwischen den Geschlechtern keine Unterschiede (DeCastro, 1987).
- ♦ Untersucht man die zeitlichen Abstände zwischen den Mahlzeiten, zeigt sich, dass Menschen in der Regel nicht essen, wann sie wollen, sondern durch soziale Gegebenheiten (z. B. Stundenpläne, Arbeitspausen) eingeschränkt sind. Die Nahrungsaufnahme wird daher vor allem durch die Mahlzeitgröße und nicht durch den Abstand zur vorherigen Mahlzeit reguliert. Es gibt eine positive Korrelation zwischen

der Nahrungsmenge und dem subjektiv empfundenen Hunger sowie eine negative Korrelation zwischen der Nahrungsmenge und dem Mageninhalt vor der Mahlzeit. Eine positive Korrelation zwischen der Mahlzeitgröße und dem zeitlichen Abstand zur vorherigen Mahlzeit ist beim Menschen nur dann signifikant, wenn die Nahrungsaufnahme alleine erfolgt (De Castro, 1988).

- ♦ Auch im Verlauf der Woche lassen sich Veränderungen in der Nahrungsaufnahme nachweisen. So haben Menschen am Wochenende (Freitag bis Sonntag) eine bis zu 200 kcal höhere Gesamtenergieaufnahme als an den anderen Wochentagen (Montag bis Donnerstag). Die Anzahl der Mahlzeiten bleibt dabei unverändert, lediglich die Menge, die pro Mahlzeit konsumiert wird, nimmt zu. Die Ursache hierfür liegt in sozialen Faktoren. So ist die Anwesenheit von mehr Personen und die größere zeitliche Flexibilität mit einer gesteigerten Nahrungsaufnahme am Wochenende assoziiert (De Castro, 1991).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Menschen täglich drei bis vier Mahlzeiten zu sich nehmen. Verteilt über den Tag nehmen Männer tendenziell in der ersten Tageshälfte und Frauen abends die meisten Kalorien zu sich. Die Größe einer Mahlzeit wird dabei nicht nur vom Hunger, sondern auch von äußeren Faktoren, wie der Anwesenheit anderer Personen oder der zur Verfügung stehenden Zeit, bestimmt, sodass am Wochenende in der Regel mehr Nahrung aufgenommen wird als in der Woche.

1.5.2.2 Makronährstoffe

Eine ausgewogene Ernährung besteht aus den drei Makronährstoffen Fetten, Kohlenhydraten und Eiweißen. Ihr jeweiliger prozentualer Anteil an der Gesamtkalorienaufnahme kann mit Hilfe spezieller Programme errechnet werden. Auf diese Weise kann – bezogen auf die hier durchgeführte Untersuchung – nicht nur der Einfluss von Insulin auf die Gesamtkalorienaufnahme untersucht werden, sondern auch, ob es einen Effekt auf die Zusammensetzung (also den jeweiligen prozentualen Anteil der Makronährstoffe) der Nahrungszufuhr gibt. Im Folgenden wird ein Überblick über die wichtigsten Funktionen und Zufuhrempfehlungen für die drei Makronährstoffe gegeben.

- ♦ Fette sind ein wichtiger Energieträger und der einzige Langzeitenergiespeicher für den Menschen. Zu ihren Funktionen gehört neben der Thermoregulation und der Schutzfunktion auch ihre wichtige Rolle als Träger von essentiellen Fettsäuren und der fettlöslichen Vitaminen A, D, E, K. Die Absorption der Fette erfolgt im oberen Dünndarmabschnitt, wobei kurz- und mittelkettige Fettsäuren direkt über die Pfortader

ins Blut gelangen. Die durchschnittliche Zufuhr beträgt in den Industrieländern zwischen 100-130 g/Tag und macht so etwa 30-45 % der zugeführten Energie aus. Empfohlen wird zur täglichen Deckung des Energiebedarfs ein Fettanteil von 25-35 % (Suter, 2008).

- ♦ Über die Hälfte des Energiebedarfs wird durch Kohlenhydrate gedeckt. Wie bereits unter 1.3.2 dargestellt, haben Kohlenhydrate (speziell Glukose) eine wichtige Funktion als Energiequelle. Darüber hinaus haben sie proteinsparende Wirkung und sind Bestandteil verschiedener Biomoleküle. Nach der Spaltung zu Monosacchariden werden die Kohlenhydrate im Dünndarm durch passive Diffusion aufgenommen. Der minimale Bedarf an Kohlenhydraten liegt bei 150 g/Tag. In den Industrieländern liegt die Zufuhr durchschnittlich bei 40-45 %, in den Entwicklungsländern bei mehr als 85 %. Empfohlen wird >50 % des täglichen Energiebedarfs durch Kohlenhydrate zu decken, wobei davon weniger als 10 % Saccharose sein sollten (Suter, 2008).
- ♦ Eiweiße, auch als Proteine bezeichnet, sind aus Aminosäuren aufgebaut und neben den Fetten ein weiterer wichtiger Bestandteil unserer Ernährung. Im Organismus haben Eiweiße verschiedenste Funktionen, unter anderem als Enzyme, Membranbestandteile, Transportmoleküle oder Neurotransmittervorstufen. Nach der Spaltung durch Verdauungsenzyme in Aminosäuren erfolgt im Dünndarm die Absorption mittels spezifischer und unspezifischer Transporter. Da jedes Eiweiß spezifische Funktionen hat und es keinen Speicher gibt, ist der Körper auf eine konstante Eiweißzufuhr angewiesen. Der minimale Bedarf liegt bei 0,39 g Eiweiß pro kg Körpergewicht (KG) und Tag. Empfohlen wird eine tägliche Zufuhr von 0,5-0,8 g/kgKG/Tag (Suter, 2008).

Zusammenfassend ist also festzustellen, dass die Deckung des Energiebedarfs zu 15 % aus Eiweißen, zu weniger als 30 % durch Fette und zu mehr als der Hälfte durch Kohlenhydrate empfohlen wird. Es ist bekannt, dass zentral wirksames Insulin bei normalgewichtigen Männern die Gesamtkalorienaufnahme reduziert (vgl. 1.4.3). Bisher gibt es allerdings keine Humanexperimente die untersuchen, ob sich auch die prozentuale Zusammensetzung der Ernährung unter Insulingabe verändert. Es liegen jedoch zwei Tierexperimente vor, welche Rückschlüsse auf eine mögliche Wirkung bei Menschen zulassen. Wie unter 1.4.1 und 1.4.2 dargestellt, konnte in Untersuchungen mit männlichen Ratten nachgewiesen werden, dass die intrazerebroventrikuläre Gabe von Insulin zu einer signifikant verminderten Aufnahme von Fett führt. Da es bisher keine Humanexperimente mit Anwendung zentral wirksamen Insulins gibt, welche neben der Gesamtkalorienaufnahme auch deren prozentuale Zusammensetzung aus den drei Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß untersuchen, ist dies Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

1.6 Adipositas und zentral wirksames Insulin und Leptin

Von Übergewicht spricht man ab einem BMI von 25 kg/m^2 und von Adipositas ab 30 kg/m^2 (WHO, 2000). Es gibt verschiedene Ursachen für die Zunahme des Körpergewichts. Zu diesen gehören unter anderem Überernährung, Bewegungsmangel, soziokulturelle oder auch genetische Faktoren.

Auch die beiden Adipositassignale Insulin und Leptin können an der Entstehung von Übergewicht beteiligt sein. So ist eine relative Verminderung der beiden Hormone in der CSF beim Menschen assoziiert mit Übergewicht (Figlewicz, 2003; Seeley et al., 1996). Ursächlich für eine solche Verminderung können z. B. Genmutationen des Leptinrezeptors oder des Insulinsignalproteins sein (Pérusse, Chagnon, Weisnagel, Rankinen, Synder, Sands, Bouchard, 2000).

Liegt zum Beispiel ein Defekt des Leptinrezeptors vor, steigt das Körpergewicht trotz hoher Plasma-Leptinspiegel an, da der Transport ins Gehirn gestört und somit der Leptinlevel in der CSF im Vergleich zum Plasma niedriger ist (Schwartz et al., 2000). In diesem Fall spricht man auch von „Leptinresistenz“, die mit der Entstehung von Adipositas assoziiert ist (Gekle, 2005). Neben der Störung des Leptin-Rezeptor-Signalwegs im Ncl. arcuatus kann auch ein gestörter Transport über die BHS zur Leptinresistenz führen (Myers, Cowley, Münzberg, 2008).

Auch im Fall von Insulin ist eine reduzierte Sensitivität des zentralen Insulinrezeptors mit einem relativen Insulindefizit im ZNS und damit mit steigendem Körpergewicht assoziiert (Kern et al., 2006). Ursächlich für die reduzierte Sensitivität kann neben der Mutation des Insulinrezeptorgens auch eine fructosereiche Ernährung sein. Diese kann zur Hyperinsulinämie, Hyperlipidämie, verminderter Insulinsensitivität und zur Downregulation des neuronalen Insulinsignalwegs führen (Mielke, Taghibiglou, Liu, Zhang, Jia, Adeli, Wang, 2005). Darüber hinaus scheint die intraabdominelle Fettmenge eine Determinante in der Entstehung von Insulin-Resistenz zu sein (Porte et al., 2002). So sind die viszerale Adipozyten weniger sensitiv für die antilipolytischen Effekte von Insulin, sodass einer erhöhte viszerale Fettmenge mit einem höheren Risiko für metabolische Komplikationen einhergeht (Shi & Clegg, 2009a; Geer & Shen, 2009). Viszerale Fett tritt v. a. bei Männern auf, aber auch Frauen können viszerale Fettdepots, z. B. bedingt durch Östrogenmangel entwickeln. Carey, Jenkins, Campell, Freund und Chisholm konnten in ihrer Studie (1996) mit gesunden Frauen nachweisen, dass es einen engen Zusammenhang zwischen der Menge an viszeralem Fett und der Entwicklung von peripherer Insulin-Resistenz gibt. Übergewicht kann also assoziiert sein mit einer zentralnervösen Resistenz gegen das Adipositassignal, weshalb die Gabe von intranasalem Insulin bei übergewichtigen Männern keinen

gewichtsreduzierenden Effekt hat (Hallschmid et al., 2008).

Die Nahrungsaufnahme wird aber nicht nur vom Hunger- und Sättigungsgefühl bestimmt, deren Regulation durch die Adipositassignale gestört sein kann, sondern auch durch das Belohnungsempfinden. Verantwortlich für die Modulation von Verhaltensweisen, wie dem Belohnungslernen, ist das Mesolimbische System mit dem Neurotransmitter Dopamin (Daws, Avison, Robertson, Niswender, Galli & Saunders, 2011). Die dopaminergen Neurone befinden sich in der Substantia nigra und der Area tegmentalis ventralis. Von hier aus projizieren die Neuronen zu Dopaminrezeptoren in anderen Hirnarealen (Belgardt & Brüning, 2010). Zu diesen gehört unter anderem der D2-Rezeptor im Striatum und im dorsolateralen präfrontalen Kortex. Die Aufnahme einer wohlschmeckenden Mahlzeit führt zu einer gesteigerten Aktivität der D2-Rezeptoren im Bereich des Striatums, welches am Belohnungssystem beteiligt ist, sowie des dorsolateralen präfrontalen Kortex, welcher für die kognitive Kontrolle des Verhaltens verantwortlich ist (Volkow, Wang, Telang, Fowler, Thanos, Logan...Pradhan, 2008).

Bei Übergewichtigen ist die Anzahl dieser D2-Rezeptoren vermindert. Die Herunterregulation der Rezeptoren kann zum einen als Reaktion auf übermäßiges Essen entstehen und zum anderen genetisch bedingt sein. So liegt bei Übergewichtigen häufig eine Variation des Dopamin-D2-Rezeptorgens (Taq1A1 Allel) vor, welches mit einer verminderten Anzahl von Dopamin-Rezeptoren assoziiert ist. Dies hat zur Folge, dass die Aktivität des dorsolateralen präfrontalen Kortex vermindert ist und es so zum Kontrollverlust über das Essverhalten kommt. Auch die Aktivität der striatalen Rezeptoren ist vermindert, so dass das Belohnungsempfinden nach der Nahrungsaufnahme geringer ausgeprägt ist als bei Normalgewichtigen. Damit sich ein vergleichbares Belohnungsgefühl einstellt, muss mehr Dopamin ausgeschüttet werden, also entsprechend mehr Nahrung konsumiert werden. Eine Interpretation ist, dass Übergewichtige so häufig ein suchtägliches Essverhalten entwickeln (Daws et al., 2011; Volkow et al., 2008).

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Übergewicht mit einer zentralen Resistenz gegen die Adipositassignale Insulin und Leptin zusammenhängen kann und somit trotz Hyperinsulinämie oder Hyperleptinämie das Körpergewicht weiter ansteigt. Die Gabe von intranasalem Insulin hat daher bei Übergewichtigen keinen Effekt auf das Körpergewicht. Darüber hinaus liegen Hinweise vor, dass bei Übergewichtigen die Anzahl der Dopaminrezeptoren D2 vermindert sein kann, wodurch sich ein zufriedenstellendes Belohnungsgefühl erst durch größere Mengen an Nahrung einstellt.

1.7 Fragestellungen und Hypothesen

Wie bereits dargestellt, gibt es nur wenige Humanstudien, die den akuten Effekt von intranasalem Insulin auf das Nahrungsverhalten untersuchen. Erfasst wurden deshalb im DFG-Gesamtprojekt (DFG STO 323/1-2), aus dem die Fragestellungen und Daten auch der vorliegenden Studie hervorgegangen sind, u. a. das Essverhalten (Kalorienaufnahme, Essgeschwindigkeit) in einer standardisierten Testmahlzeit im Labor. Bisher liegen keine Daten zu den Effekten intranasalen Insulins auf das anschließende Essverhalten (Gesamtkalorienmenge, Nährstoffzusammensetzung, *Meal pattern*) unter natürlichen Bedingungen vor. Es fehlen zudem Daten zum Zusammenhang zwischen dem Essverhalten unter natürlichen Bedingungen infolge von intranasaler Insulingabe versus Placebo sowie ausgewählten endokrinen Parametern, wie Insulin, Leptin und Östrogen.

Die vorliegende Arbeit geht daher folgenden Fragen nach und formuliert die nachfolgenden Hypothesen:

- I) Welchen Effekt hat die akute Gabe intranasal verabreichten Insulins auf das nachfolgende Essverhalten (Gesamtkalorienmenge) unter natürlichen Bedingungen? Ergeben sich in der Reaktion auf Insulin vs. Placebo Unterschiede zwischen Männern und Frauen?
 - ♦ (a) Es wird erwartet, dass insulinbehandelte Probanden (Pbn) auch unter natürlichen Umgebungsbedingungen eine geringere Kalorienmenge aufnehmen als die placebobehandelten Pbn (in der Gesamtgruppe).
 - ♦ (b) Es wird erwartet, dass der nahrungsaufnahmereduzierende Effekt intranasalen Insulins auch unter natürlichen Bedingungen nur bei Männern (nicht bei Frauen) im Vergleich zu der jeweiligen Placebokontrollgruppe im Sinne einer geringeren Gesamtkalorienaufnahme deutlich wird.
- II) Hat die Gabe von intranasalem Insulin im Vergleich zu Placebo einen Effekt auf die prozentuale Zusammensetzung der Mahlzeit in Bezug auf zwei der drei Makronährstoffe (Fett, Kohlenhydrate)?
 - ♦ Es wird erwartet, dass die insulinbehandelten Pbn prozentual weniger Fett und mehr Kohlenhydrate bei unveränderter prozentualer Proteinaufnahme konsumieren als die Pbn der Placebogruppe. Da keine Daten zu geschlechtsspezifischen Effekten vorliegen, wird diese Annahme auch für die Subgruppen der Männer und Frauen formuliert.
- III) Unterscheidet sich die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme (*Meal pattern*)

substanzabhängig, also zwischen insulinbehandelten vs. placebobehandelten Pbn?

- ♦ Es wird erwartet, dass die Insulingruppe durch den sättigenden Effekt von Insulin am ersten Versuchstag im Anschluss an die Laborsitzung sowohl im Hinblick auf die Latenz als auch auf die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme erst später am Tag wieder Nahrung zu sich nimmt.
- IV) Darüber hinaus wird explorativ untersucht, ob sich pro Versuchsbedingung (Insulin und Placebo) in den Subgruppen der Männer und Frauen korrelative Zusammenhänge aufzeigen lassen zwischen der Gesamtkalorienmenge des natürlichen Essverhaltens (Tag 1) und den in der Laborsitzung (Tag 1) erhobenen Spiegel der Hormone Insulin, Leptin und Östradiol (jeweils angegeben als Summe der kumulierten Veränderungen der Hormonspiegel bezogen auf den Baselinewert vor Substanzgabe).
- ♦ Es wird erwartet, dass es eine negative Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und dem Insulinspiegel bei Männern gibt.
 - ♦ Es wird erwartet, dass es eine negative Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und dem Leptinspiegel bei Frauen gibt.
 - ♦ Es wird erwartet, dass es eine negative Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und dem Östradiolspiegel bei Frauen gibt.
- V) Zuletzt wird explorativ untersucht, ob sich pro Versuchsbedingung (Insulin und Placebo) in den Subgruppen der Männer und Frauen korrelative Zusammenhänge aufzeigen lassen zwischen der prozentualen Nährstoffverteilung (getrennt in die Nährstoffklassen Fett und Kohlenhydrate) (Tag 1) und den in der Laborsitzung (Tag 1) erhobenen Spiegel der Hormone Insulin, Leptin und Östradiol (jeweils angegeben als Summen der kumulierten Veränderungen der Hormonspiegel bezogen auf den Baselinewert vor Substanzgabe).
- ♦ Es wird erwartet, dass es eine negative Korrelation zwischen dem prozentualen Fettanteil und dem Insulinspiegel bei Männern gibt.
 - ♦ Es wird erwartet, dass es eine positive Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenhydratanteil und dem Insulinspiegel bei Männern gibt.
 - ♦ Da keine Daten zu frauenspezifischen Effekten vorliegen, werden diese Annahmen auch für die Subgruppe der Frauen formuliert.

2. Methode

2.1 Versuchsplan und (quasi)-unabhängige Variablen

Die untersuchte Fragestellung ist Teil eines umfassenden Experiments zu den Effekten intranasalen Insulins auf Essverhalten, Gedächtnis und endokrine Parameter bei Gesunden (DFG-Projekt STO 323/1-2). Die Studie wurde im Zeitraum vom 10.11.2005 bis zum 20.11.2007 durchgeführt, sodass die Daten im Vorfeld dieser Dissertation bereits erhoben worden waren. Aus dem Projekt ist bereits eine Dissertation hervorgegangen (Blicke, 2009). Weitere Arbeiten sind in der Abfassung. Die Auswertung dieser Daten im Hinblick auf die o.g. Fragestellungen erfolgte ab November 2010.

Eingesetzt wurde ein 2 x 2 faktorieller Versuchsplan mit dem experimentellen Faktor „Art der intranasal verabreichten Substanz“ in den Stufen „Insulin“ versus „Placebo“ und dem quasi-experimentellen Faktor „Geschlecht“ in den Stufen „männlich“ vs. „weiblich“ (vgl. Tabelle 1). Der Gesamtversuchsplan und die zugehörigen Daten dieser Laborsitzung wurden in der Dissertation von Blicke (2009) dargestellt.

Tabelle 1.

2x2 faktorieller Versuchsplan mit dem experimentellen Faktor „Art der Substanz“ und dem quasiexperimentellen Faktor „Geschlecht“

	Intranasal verabreichte Substanz	
	Insulin	Placebo
Geschlecht		
Männlich	n = 15	n = 16
Weiblich	n = 16	n = 16

Innerhalb der Gruppe der Männer und Frauen wurden die Probanden anhand ihres BMI gruppiert und den Stufen des experimentellen Faktors jeweils randomisiert zugeteilt. Es nahmen 63 (31 Männer und 32 Frauen) junge, gesunde Studenten im Alter zwischen 18 und 35 Jahren.

Die Stufen der unabhängigen experimentellen Variablen waren wie folgt operationalisiert: Intranasales Insulin (Insulin insuman rapid U100, Hoechst, enthält 2.63 mg/ml meta-Cresol) wurde sechs mal jeweils in einem zeitlichen Abstand von 15 min und in einer Dosis von 10 IE

(0.1 ml) pro Nasenloch (insgesamt 20 IE [0.2 ml] pro Applikation) verabreicht. Dabei wurde bei der Gabe die Reihenfolge der Nasenlöcher als rechts/links und links/rechts ausbalanciert. Die Kontrollgruppe erhielt eine Dosis von 6 x 0.2 ml des Placebos (Verdünnungspuffer HOE 31, Hoechst, enthält 2.63 mg/ml meta-Cresol). Die kumulative Dosis beträgt somit 120 IE Insulin bzw 1.2 ml Placebo, was im Volumen der Insulinverabreichung entspricht.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf (Studien-Nr. 1444) genehmigt und erfüllt die Kriterien der Deklaration von Helsinki.

2.2 Abhängige Variablen

Die hier herangezogenen abhängigen Variablen lassen sich einteilen in (A) Parameter der Nahrungsaufnahme und (B) ausgewählte Hormone. Die insgesamt in der Laborsitzung erfassten Parameter (Gesamtprojekt DFG STO 323/1-2) sind in Tabelle 3 (vgl. Seite 40) dargestellt.

2.2.1 Parameter der Nahrungsaufnahme

2.2.1.1 Akute Nahrungsaufnahme in der Laborsitzung

Um den Effekt von Insulin auf die akute Nahrungsaufnahme zu quantifizieren, erhielten alle Probanden am Ende der Versuchssitzung eine standardisierte Testmahlzeit. Diese bestand aus 30 Kräckern mit einem Energiegehalt von 13 kcal pro Stück. Von diesen war die eine Hälfte mit jeweils 13 kcal Käse bzw. die andere Hälfte mit 13 kcal Salami bzw. schweinefleischfreier Dauerwurst (bei muslimischen Probanden) oder vegetarischer Paste belegt, so dass jeder bestückte Kracker einen Brennwert von 26 kcal hatte. Der Gesamtkalorien-Gehalt der Testmahlzeit betrug somit 780 kcal. Die Probanden hatten die freie Wahl, welche und wie viele Kracker sie essen.

Neben der Anzahl der verspeisten Kracker und der Art des Belags, wurde auch die zeitgleich eingenommene Trinkmenge gemessen. Dazu erhielten die Probanden eine 0,75-Liter-Flasche Mineralwasser. Am Ende der Testmahlzeit wurde die verbliebene Restmenge im Krug mittels eines Messbechers bestimmt und die Differenz zur Ausgangsmenge notiert.

Unbemerkt von den Probanden wurde neben der aufgenommenen Gesamtkalorienmenge auch die Dauer der Testmahlzeit erfasst, indem die Zeit zwischen dem Beginn des Snacks und dem Zeitpunkt, zu dem der Proband angibt fertig zu sein, gemessen wurde.

Diese abhängige Variable wurde bereits berichtet (Blicke, 2009). Diese Daten gehen in die vorliegende Arbeit wie folgt ein, dass die während des Testmahlzeit aufgenommen Kalorienmenge von der Gesamtkalorienmenge des jeweiligen Probanden an dem Tag der Laborsitzung abgezogen wird, um die Gesamtkalorienmenge unter natürlichen Bedingungen untersuchen zu können.

2.2.1.2 Essverhalten unter natürlichen Bedingungen

Um mögliche Effekte von Insulin auf das natürliche Essverhalten unter den individuellen natürlichen Lebensbedingungen zu erfassen, führten die Probanden im Anschluss an die Laborsitzung ein Ernährungstagebuch (siehe Anhang A04.4). Die vorliegende Dissertation bezieht sich explizit auf diese Daten und die daraus resultierende Ermittlung folgender Kennwerte: Gesamtkalorienmenge, prozentuale Anteile der Makronährstoffe (Fett, Kohlenhydrate, Eiweiß) und das sog. *Meal pattern* (s. u.).

Ernährungstagebuch:

In dieses Ernährungstagebuch wurden die Probanden im Verlauf der Anamnese-sitzung eingewiesen und erhielten schriftliche Instruktionen (siehe Anlage A04.2), die sie mit nach Hause nehmen konnten, sowie ein Testtagebuch, um vor der Laborsitzung den sicheren Umgang mit dem Ernährungstagebuch zu üben. Das Testtagebuch war am Tage der Anamnese-sitzung auszufüllen. Dieses Testtagebuch wurde mit dem jeweiligen Probanden besprochen, um mögliche Verständnisprobleme vor der Laborsitzung zu klären.

Das Ernährungstagebuch, welches die Probanden im Anschluss an die Laborsitzung ausgehändigt bekamen, wurde über den Tag der Laborsitzung, den folgenden Wochentag sowie über den darauffolgenden Sonntag geführt. Falls der Versuchstag auf einen Freitag fiel, wurde von diesem System abgewichen und in der Reihenfolge Freitag, Sonntag, Montag protokolliert (siehe Anhang A04.1). Ein Überblick über die erfassten Wochentage liefert die Tabelle 5.

Tabelle 2.

Übersicht über die im Ernährungstagebuch erfassten Wochentage.

Testtagebuch	Ernährungstagebuch im Hauptversuch		
	Tag 1	Tag 2	Tag 3
Tag der Anamnese-sitzung	Tag der Laborsitzung	Folgender Wochentag	Darauffolgender Sonntag

In dem Ernährungstagebuch wurden alle aufgenommenen Speisen und Getränke detailliert aufgezeichnet. Die Dokumentation jeder Mahlzeit umfasste neben dem Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme und der individuellen Zuordnung als Haupt- oder Zwischenmahlzeit, auch eine möglichst genaue Beschreibung der einzelnen Nahrungsmittel sowie die Angabe der Portionsgröße in haushaltsüblichen Mengenangaben. Die Probanden erhielten zu dem zuletzt genannten Punkt eine Übersicht an Küchenmaßen, welche in Zusammenarbeit mit dem Deutschen Diabetes Zentrum (DDZ) erstellt wurden (siehe Anhang A04.3). Hierin wurde beispielsweise die Größe einer Tasse von sehr klein mit 40-50 ml bis hin zu groß mit 250-300ml definiert.

Auswertung Rohdaten Ernährungstagebuch:

Die Auswertung der Ernährungsprotokolle der einzelnen Probanden erfolgte mit der Software FCMS Diät 2000 (ASP-Version 7.6.189, Fa. Soft & Hard) durch Herrn Dipl. Oecotroph. Hubert Overmann, Mitarbeiter der Klinik für Endokrinologie, Diabetologie und Rheumatologie des Universitätsklinikums Düsseldorf. Dabei wurde jeder protokollierte Tag getrennt ausgewertet. Bei dieser Auswertung wurde jede Mahlzeit einzeln betrachtet. Dazu wurde jede vom Probanden aufgelistete Einzelkomponente einer Mahlzeit aus einer in der Software hinterlegten Referenztabelle herausgesucht. Diese Referenztabelle, der sogenannte Bundeslebensmittelschlüssel (BSL), welcher vom Max Rubner-Institut herausgegeben wird, enthält Daten über die Makronährstoffzusammensetzung und Kaloriengehalte von Lebensmitteln, wie Obst- und Gemüse-Sorten, oder definierten Gerichten (wie z. B. Hühnerfrikassee) sowie Markenprodukte (wie z. B. Pizza der Firma XY) und Getränke. Anhand der vom Probanden angegebenen Bezeichnung wurden die Lebensmittel ermittelt und die vom Probanden angegebene haushaltsübliche Produktmengenangabe in Gramm eingegeben. Das Programm errechnet aus diesen Mengenangaben die im BLS hinterlegten Angaben bezüglich Energiegehalt in Kilokalorien und die Zusammensetzung der jeweiligen Nahrung bzw. des Getränks in Gramm für jede der Makronährstoffklassen (Fett, Kohlenhydrate, Eiweiß) sowie für Alkohol.

Von dieser Auswertung durch die Software wurde an Tag 1 die noch im Labor konsumierte Testmahlzeit abgezogen. Darüber hinaus wurde, um eine bessere Vergleichbarkeit mit den vorliegenden Studien im Tier- und Humanbereich zu erzielen, pro Versuchstag der konsumierte Alkohol von der Gesamtkalorienmenge abgezogen. Da die Software die konsumierte Alkoholmenge lediglich in Gramm-Werten angibt, erfolgte eine Umrechnung in kcal, um die kcal-Menge, welche durch den Alkohol bedingt ist, von der Gesamtkalorienmenge abziehen zu können. Auch für die Gramm-Werte der drei Makronährstoffklassen erfolgte diese Rückrechnung, um die prozentuale Zusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus Fett, Kohlenhydraten und Eiweiß berechnen zu können (vgl. 3.2). Grundlage für diese Rückrechnung waren die Vorgaben nach BLS. So wurden die Gramm-Werte zunächst in Kilo-Joule (kJ) umgerechnet und zwar mit dem Faktor 37 für Fett, mit 17 jeweils für Eiweiß und Kohlenhydrate sowie mit 29 für Alkohol. Im Anschluss wurden die errechneten kJ-Werte durch den Faktor 4.1868 dividiert um den jeweiligen kcal-Wert pro Nahrungsmittel zu erhalten. Im Anschluss wurden die so neu errechneten kcal-Werte zu einem Gesamtkalorienmenge summiert.

Um ein Beispiel anzuführen, bestand das Mittagessen von Proband E5hv02 an Tag 1 aus 2 Gläsern Wasser und einer halben Tiefkühlpizza Hawaii. Das Getränk wurde mit 400 g eingegeben und das Programm errechnete hierfür 0 Kalorien. Eine halbe Pizza entspricht 150 g und die Referenztabelle lieferte hierfür einen Gesamtkaloriengehalt von 371 kcal, der sich zusammensetzt aus 17.6 g Fett, 40.5 g Kohlenhydrate und 12.2 g Eiweiß. Multipliziert mit dem jeweiligen Faktor ergaben sich hieraus 651.2 kJ Fett, 688.5 kJ Kohlenhydrate und 207.4 kJ Eiweiß. Hieraus wurde eine Gesamtkalorienmenge von 370,2 kcal errechnet, welche sich wie folgt aus den drei Nährstoffklassen zusammensetzt: 42 % Fett (155.5 kcal), 45 % Kohlenhydrate (165.2 kcal) und 13 % Proteine (49.5 kcal).

Diese Auswertung wurde für jede Mahlzeit und jeden protokollierten Tag getrennt durchgeführt und zusätzlich wurde für jede Mahlzeit die Uhrzeit der Nahrungsaufnahme eingegeben.

Kennwerte:

Auf diese Weise wurden die Rohdaten im Sinne von (a) Gesamtkalorienmenge pro Tag, (b) Zusammensetzung aus den Makronährstoffen und (c) *Meal pattern* gewonnen. Im Anschluss wurde für jeden der drei Tage eine Gesamtbilanz bezüglich der Gesamtkalorienmenge und der prozentualen Zusammensetzung aus den drei Makronährstoffen erstellt. Zusätzlich wurde in dieser Bilanz manuell die Uhrzeit der Aufnahme einer Mahlzeit, sowie deren probandenspezifische Definition als Haupt- oder Zwischenmahlzeit erfasst. Um das *Meal pattern* untersuchen zu können, wurde außerdem der Zeitraum zwischen der Testmahlzeit im Labor und der ersten Mahlzeit nach der Laborsitzung unter natürlichen Bedingungen erfasst sowie für Tag 1 eine Übersicht, wie sich die Gesamtkalorienmenge prozentual über den Tag

(in vier Zeitabschnitten zwischen 12 bis 24 Uhr) verteilt, erstellt.

2.2.2 Blutzuckerspiegel und ausgewählte Hormone: Insulin, Leptin und Östradiol

Der Blutzuckerspiegel wurde in der Baselinephase der Laborsitzung insgesamt drei mal (Minute -30, -15, -7.5) und in der Treatmentphase dreizehnmal (Minute 0, 7.5, 15, 22.5, 30, 45, 52.5, 60, 67.5, 75, 82.5, 90, 105) erfasst. Die Hormone Insulin, Leptin und Östradiol wurden einmal vor der ersten Substanzverabreichung (Minute -15) und sechs mal nach jeder intranasalen Gabe (Minute 0, 15, 30, 45, 60, 75) (vgl. Tabelle 4) gemessen.

Die Bestimmung des venösen Blutzuckerspiegels erfolgte direkt im Anschluss an die Laborsitzung mit Hilfe eines Eppendorf EPOS 5060 Analyser. Das hier eingesetzte Verfahren ist die Hexokinase-Methode. Die quantitative Bestimmung des Blutzuckers erfolgt hierbei durch eine zweischrittige Enzymreaktion, bei der vermehrt Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) anfällt. Durch den Anstieg von NADH kommt es zur vermehrten Absorption von Licht mit einer Wellenlänge von 340 nm. Der Anstieg des Absorptionsvermögens ist direkt proportional zu der in der Probe vorhandenen Glukose (Löffler & Wiederanders, 2003). Um die Fehlerquote möglichst gering zu halten, wurde der Blutzuckerspiegel in jeder Probe doppelt bestimmt und der Mittelwert aus beiden Einzelwerten verwendet. Bestand zwischen diesen beiden Werte eine Abweichung von mehr als 6 mg/dl, wurde der Spiegel ein drittes mal bestimmt und die beiden Werte, welche am dichtesten beieinander lagen, zur Bestimmung des Mittelwertes verwendet (vgl. auch Blicke, 2009).

Der Insulinspiegel im Serum wurde mit Hilfe des kommerziell erhältlichen CMIA (Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoessay, Abbott, Wiesbaden, Deutschland) im Architect Analyser bestimmt. Es handelt sich um ein Ein-Schritt-Immunoassay, dessen Testprinzip darauf beruht, dass das in der Blutprobe enthaltene Insulin an die Anti-Insulin beschichteten Mikropartikel und das Anti-Insulin:Akridinium-markierte Konjugat bindet. Nach dem Waschen wird durch die Zugabe der Pre-Triggerlösung und der Triggerlösung die Chemilumineszenzreaktion ausgelöst, welche in relativen Lichteinheiten (RLE) gemessen wird. Die Menge an enthaltenem Insulin ist dabei direkt proportional zur gemessenen RLE. Die Präzision des Architect Insulin Assays liegt laut Hersteller unter 7% Gesamt-Variationskoeffizient (Gesamt-VK). Für niedrige Insulinkonzentrationen (7.5 mU/l) liegt der Gesamt-VK zwischen 4.5 und 5.2% und für die mittleren Konzentrationen (38 mU/l) zwischen 2.3 und 2.8%. Bei hohen Insulinwerten (120 mU/l), wie sie nach Glukosestimulation oder Insulingabe auftreten, liegt der Gesamt-VK zwischen 2.1 und 2.3%. Der Intraassay VK (Streuung innerhalb einer Charge) liegt zwischen 1.7 – 4.2% und der Interassay VK

(Streuung zwischen den Chargen) zwischen 2.1 – 5.2%. Die errechnete Sensitivität des Assays ist besser als 1.0 mU/l (ABBOTT Diagnostics Division, 2005).

Die Bestimmung des Leptinspiegels im Serum erfolgte mittels Sandwich-ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, DRG, Marburg, Deutschland). Das in der Probe enthaltene Leptin bindet an tierische, polyklonale Leptin-Primärantikörper auf der festen Phase, der sogenannten 96-wells Mikrotiterplatte. Nach der Entfernung des ungebundenen Materials werden biotinylierte monoklonale Leptin-Sekundärantikörper hinzugeben. Es entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex. Nach erneuter Waschung erfolgt die Bindung der Streptavidin-Meerrettichperoxidase an die gebundenen biotinylierten Sekundärantikörper. Durch Hinzugabe des Substrates 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin lässt sich die Enzymaktivität spektrophotometrisch messen. Der Anstieg des Absorptionsvermögens ist direkt proportional zu der in der Probe vorhandenen Leptinmenge. Die Leptinspiegel im Serum liegen bei Frauen zwischen 3.5 und 15 ng/ml und bei Männern zwischen 2.5 und 10 ng/ml bei einem normwertigen BMI von 19-25 (Schauseil & Kuschak, 2006a). Innerhalb dieser Leptinspiegel liegt der Intraassay VK zwischen 2.6 und 4.6 % und der Interassay VK zwischen 2.6 und 6.2 %. Die Sensitivität des Assays ist laut Hersteller kleiner 0.125 ng/ml (DRG Diagnostics, 2006).

Um den Östradiolspiegel im Serum zu bestimmen wurde ebenfalls die Technik des CMIA (Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay, Abbott, Wiesbaden, Deutschland) verwendet. Östradiol ist neben Östron und Östriol das wichtigste natürlichen Östrogen. Das Testverfahren ist ein kompetitiver Zwei-Schritt-Immunoassay. Im ersten Schritt bindet das in der Probe enthaltene Östradiol an die mit monoklonalen tierischen anti-Östradiol beschichteten Mikropartikel. Nach einer Inkubationsphase wird dem Reaktionsgemisch Östradiol:Akridinium-markiertes Konjugat hinzugegeben. Im zweiten Schritt wird nach einer erneuten Inkubationsphase und der Entfernung des ungebundenen Materials die Pre-Triggerlösung und die Triggerlösung hinzugegeben. Die dadurch ausgelöste Chemilumineszenzreaktion wird in RLE gemessen, wobei die Menge an vorhandenen Östradiol umgekehrt proportional zur gemessenen RLE ist. Der Östradiolspiegel im Serum liegt bei Männern zwischen 8 und 43 ng/ml. Bei Frauen schwankt der Wert abhängig von der weiblichen Zyklusphase zwischen 13 und 498 pg/ml (Schauseil & Kuschak, 2006b). Der Intraassay VK für niedrige Östradiolkonzentrationen (45 pg/ml) liegt bei 4.6 und 6.4 % und der Interassay VK zwischen 5.6 und 7.4 %. Für mittlere Konzentrationen (190 pg/ml) liegt der Intraassay VK bei 1.5 und 2.3 % und der Interassay VK zwischen 2.1 und 2.5 %. Und für hohe Konzentrationen (600 pg/ml), wie sie präovulatorisch vorkommen, liegt der Intraassay VK bei 1.4 bis 1.8 % und der Interassay zwischen 1.8 und 2.6 %. Die analytische Sensitivität des Östradiol Assay ist kleiner 10 pg/ml (ABBOTT Diagnostics Division, 2004).

Die Auswertung der Proben zur Bestimmung des Blutzuckerspiegels sowie des Insulin- und Östradiolspiegels im Serum erfolgten im Labor des Deutschen Diabetes Zentrums in Düsseldorf. Die Proben zur Bestimmung des Leptinspiegels im Serum wurden im Labor der Klinik für Endokrinologie, Rheumatologie und Diabetologie des Universitätsklinikums Düsseldorf ausgewertet.

2.3 Versuchsablauf

Der gesamte Untersuchungsablauf umfasste eine Anamnese- und eine Laborsitzung inklusive nachfolgend auszufüllender Ernährungsprotokolle. Die Erhebung der Daten erfolgte im Zeitraum von Februar 2006 bis November 2007 durch eine Doktorandin der Psychologie (MB) und zwei Doktorandinnen der Medizin (MF, DR) (vgl. 2.5 und 2.6).

2.3.1 Anamnesesitzung

Die etwa 90 min dauernde Anamnesesitzung diente der Aufklärung der Probanden sowie der Einholung der Einverständniserklärung und der Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien.

Die Probanden wurden vormittags (7:30, 9:30, 11:00 Uhr) in das DDZ einbestellt und hatten zu diesem Termin einige Verhaltensregeln einzuhalten. Zu diesen gehörte u. a. eine 12-stündige Fastenperiode, in der lediglich das Trinken von Wasser oder ungesüßtem Früchtetee erlaubt war. Darüber hinaus durften die Probanden keine Medikamente einnehmen und vor der Untersuchung keinen Sport treiben sowie in den letzten 24 h vor ihrem Termin keinen Alkohol konsumiert haben. Diese Verhaltensregeln waren auch für die eigentliche Laborsitzung einzuhalten.

Zu Beginn der Anamnesesitzung erfolgte die Erfassung der persönlichen Daten und die Aufklärung über die Studie anhand der Probandeninformation (siehe Anhang A01), sowie die Einholung der Einverständniserklärung. Im Anschluss hieran wurde Blut aus der Fingerbeere, zur Bestimmung des kapillären Blutzuckerspiegels, entnommen. Zur Klärung der Ein- und Ausschlusskriterien wurden die Probanden zu ihren Erkrankungen und Arztbesuchen des letzten Jahres sowie zu ihrem typischen Bewegungs- und Nahrungsverhalten befragt. Zusätzlich erfolgte eine orientierende körperliche Untersuchung zur Erfassung des Gesundheitsstatus der Probanden. Diese umfasste die Untersuchung der Augen, des Mundes und der Nase mit Nasennebenhöhlen. Darüber hinaus wurden die Schilddrüse sowie die wichtigsten Lymphknotenstationen abgetastet und die Klopfschmerzhaftigkeit über der Wirbelsäule und den Nierenlagern getestet. Neben der

Auskultation von Herz und Lunge, wurde auch das Abdomen untersucht sowie der Reflexstatus und die Vitalparameter erhoben. Zuletzt wurden die Körpergröße sowie das Gewicht erfasst und der Hüft-Tailen-Umfang gemessen zur Ermittlung der Waist-Hip-Ratio (siehe Anhang A02.1).

Folgende Einschlusskriterien mussten dabei von allen Probanden erfüllt werden:

- ♦ sie mussten gesund sein
- ♦ den Status eines Studierenden haben
- ♦ zwischen 18 und 35 Jahre alt sein
- ♦ Nichtraucher sein
- ♦ einen BMI zwischen 16 bis 45 haben

Zur Vermeidung möglicher Gesundheitsrisiken oder Interaktionen mit endokrinen Parametern, wurden folgende Ausschlusskriterien festgelegt und in dem vollstandartisierten Anamneseinterview geprüft:

- ♦ Diabetes
- ♦ Allergien
- ♦ Erkrankungen der Nase
- ♦ Kreislaufprobleme oder kardiovaskuläre Erkrankungen
- ♦ Neurologische Erkrankungen, insbesondere Krampfleiden
- ♦ Endokrinologische Erkrankungen
- ♦ Chronische Erkrankungen der Nieren oder Leber und sonstige chronische Erkrankungen
- ♦ Einnahme von Glukokortikoiden
- ♦ Einnahme von Psychopharmaka
- ♦ Medikamentenabusus oder Alkoholismus
- ♦ Rauchen
- ♦ Schlafstörungen
- ♦ Leistungssport
- ♦ bei Frauen: die Einnahme hormoneller Verhütungsmittel oder Schwangerschaft

Nach der körperlichen Untersuchung wurde den Probanden eine Venenverweilkanüle gelegt und aus dieser Blut entnommen, um den venösen Blutzuckerspiegel und den Spiegel ausgewählter endokriner Parameter zu bestimmen (vgl. 2.2.2). Darüber hinaus wurden im Rahmen der Anamneseitzung auch akustisch evozierte Potentiale abgeleitet und die Probanden wurden gebeten einen Symptombogen sowie die Eigenschaftswörterliste (EWL) in der Form EWL 60-S von Janke und Debus (1978) auszufüllen.

Am Ende der Anamneseitzung wurden die Probanden in den Umgang mit dem

Ernährungstagebuch eingewiesen und erhielten ein Testtagebuch sowie die zugehörigen Instruktionen (siehe Anhang A04.2, A04.4), um den sicheren Umgang mit diesem vor der Laborsitzung zu üben.

Die Frauen erhielten darüber hinaus einen Zykluskalender (siehe Anhang A02.2), in welchem sie bis zum Beginn der Laborsitzung ihren Zyklus fortlaufend erfassen sollten. Mit Hilfe dieses Kalenders war es möglich, die jeweilige Zyklusphase zum Zeitpunkt der Laborsitzung zu bestimmen.

2.3.2 Laborsitzung inklusive Erfassung des Essverhaltens unter natürlichen Bedingungen

Zur eigentlichen Laborsitzung wurden jeweils zwei Probanden im zeitlichen Abstand von 35 min (um 8:00 und 8:35 Uhr) einbestellt, wobei ein Proband Insulin und der andere das Placebo erhielt. Die Uhrzeiteinteilung war auf die Bedingung Insulin vs. Placebo ausbalanciert und die Durchführung des Versuchs erfolgte unter Doppelblindbedingungen.

Die Sitzung dauerte 160 min zuzüglich von ca. 10 min für die Testmahlzeit. Der Versuchsablauf war dabei unterteilt in zwei Phasen: eine 45-minütige Baselinephase vor der ersten intranasalen Substanzgabe (zum Zeitpunkt 0) und einer 115-minütigen Treatmentphase.

Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn gab es eine Vorbereitungsphase, die dazu diente den Probanden den Versuchsablauf zu erklären und auf einem Protokollbogen (siehe Anhang A03.1) wichtige Informationen, wie den gesundheitlichen Zustand und die Einhaltung der Verhaltensregeln (vgl. 2.3.1), festzuhalten. Anschließend wurden den Probanden 24 Elektroden zur Ableitung akustischer evozierter Potentiale angelegt und eine Verweilkanüle (B. Braun Vasofix Safety Kanüle 18 G 1 3/4 1, 3x45 mm) in den nicht dominanten Arm gelegt.

Nach der Vorbereitungsphase starteten die Probanden um 9:15 bzw. 9:50 Uhr mit dem Versuch. Die folgende Tabelle 3 zeigt einen Überblick über den zeitlichen Ablauf der Laborsitzung hinsichtlich der Substanzgaben und den Zeitpunkte der Blutabnahmen zur Bestimmung der Spiegel des Blutzuckers und der endokrinen Parameter. Nicht erfasst in dieser Übersicht wurden die Ableitungen der akustisch evozierten Potentiale sowie die Erhebung der Gedächtnisleistung und der subjektiven Parameter (Symptome, Befindlichkeit, Geruchs-, Substanzwahrnehmung), da in dieser Arbeit nicht näher auf diese Daten eingegangen wird. Der Gesamtversuchsplan und die zugehörigen Daten wurden in der Dissertation von Blicke (2009) dargestellt.

Tabelle 3

Zeitlicher Ablauf der Laborsitzung (Darstellung der hier relevanten Parametern).

Zeitpunkt		Maßnahme	
Min	Zeitpunkt der Substanzverabreichung	Messung des Blutzuckerspiegels	Messung der Hormonspiegel
Start	-45		
	-30	Blutzucker (1)	
	-15	Blutzucker (2)	Insulin, Leptin, Östradiol (1)
	-7.5	Blutzucker (3)	
	0	Insulin/Placebo intranasal (1)	Blutzucker (4)
	7.5		Insulin, Leptin, Östradiol (2)
	15	Blutzucker (5)	
	15	Insulin/Placebo intranasal (2)	Blutzucker (6)
	22.5		Insulin, Leptin, Östradiol (3)
	22.5	Blutzucker (7)	
	30	Insulin/Placebo intranasal (3)	Blutzucker (8)
	45		Insulin, Leptin, Östradiol (4)
	45	Insulin/Placebo intranasal (4)	Blutzucker (9)
	52.5		Insulin, Leptin, Östradiol (5)
	52.5	Blutzucker (10)	
	60	Insulin/Placebo intranasal (5)	Blutzucker (11)
	67.5		Insulin, Leptin, Östradiol (6)
	67.5	Blutzucker (12)	
	75	Insulin/Placebo intranasal (6)	Blutzucker (13)
	82.5		Insulin, Leptin, Östradiol (7)
	82.5	Blutzucker (14)	
	90	Blutzucker (15)	
	105	Blutzucker (16)	
TM	115		

Anmerkung. Min: Minute, TM: Testmahlzeit.

Die erste kleine Blutentnahme (20 µl) aus der Verweilkanüle zur Bestimmung des Blutzuckerspiegels erfolgte zum Zeitpunkt -30 min in der Baselinephase. Anschließend wurde bis zum Zeitpunkt 105 min im Abstand von 7.5 min der venöse Blutzuckerspiegel bestimmt (siehe Anhang A03.2). Das entnommene Blut wurde in ein mit Hämolytat gefülltes Eppendorf Reagiergefäß gegeben und im Anschluss an die Laborsitzung zur Analyse in das Labor des DDZ gebracht.

Die erste große Blutabnahmen (10 ml) zur Bestimmung der Hormonspiegel erfolgte zum Zeitpunkt -15 min und danach im zeitlichen Abstand von 15 min jeweils zeitgleich mit der

Gabe der intranasalen Substanz (siehe Anhang A03.3). Die Abnehmeröhrchen wurden während der Laborsitzung auf Eis gelagert und nach der Sitzung bei 4°C zentrifugiert und bis zur weiteren Untersuchung bei -20°C gelagert.

Die intranasale Applikation begann zum Zeitpunkt 0 und erfolgte dann im zeitlichen Abstand von 15 min. Dabei wurden jeweils 10 IE Insulin oder 0.1 ml Placebo in jedes Nasenloch unter Ausbalancierung der Abfolge (rechts-links oder links-rechts) appliziert. Die Verabreichung erfolgte mittels Nasensprayflaschen (Firma Saint-Gobain Calmar, Sucy-en-Brie, Frankreich) und Aufsetzern (Mistette Mark II Pump, MeadWetvaco Calmar GmbH), welche einen Hub von 0.1 ml pro Sprühstoß gewährleisten. Vor jeder Applikation wurden die Probanden in den Entspannungsstühlen nach hinten gekippt, so dass ihr Nacken für 60 Sekunden im 45° Winkel rekliniert war. Um die korrekte Applikation zu gewährleisten, wurden die Probanden instruiert, während des Sprühens normal weiter zu atmen und das Niesen möglichst zu vermeiden. Zusätzlich hatte die Versuchsleiterin bei der Applikation darauf zu achten, dass der Sprühaufsatz die Nasenscheidewand nicht berührt und ein gleichmäßiger Sprühstoß austrat.

Am Ende der Versuchssitzung erhielten alle Probanden die unter 2.2.1.1 dargestellte, standardisierte Testmahlzeit. Diese erfolgte in einem Nebenraum zum Versuchsraum. Die Probanden wurden instruiert, soviel zu essen, wie sie in diesem Moment mögen (siehe Anhang A03.4). Damit sich die Probanden während der Testmahlzeit unbeobachtet fühlten, setzte sich die Versuchsleiterin mit dem Rücken zum Probanden an einen anderen Tisch. Die Testmahlzeit dauerte im Mittel etwa 10 min.

Im Anschluss an die Laborsitzung füllten die Probanden das dreitägigen Ernährungstagebuch (vgl. 2.2.1.2) aus. Tabelle 4 gibt einen Überblick über zeitliche Verteilung der Maßnahmen der drei Versuchstage.

Tabelle 4

Zeitliche Übersicht über die Maßnahmen an den drei Versuchstagen.

Versuchstag	Uhrzeit	Maßnahme
Tag 1	00:00 bis	12-stündige Fastenperiode
	08:00 bzw. 08:35	Beginn der Laborsitzung mit der Vorbereitungsphase
	09:15 bzw. 09:50	Beginn der 45-minütigen Baselinphase
	10:00 bzw. 10:45	Beginn der 115-minütigen Treatmentphase
	11:55 bzw. 12:40	Beginn der im mittel 10-minütigen Testmahlzeit
	ca. 12:00 bzw. 12:45 bis 24:00	Erstellen des Ernährungstagebuchs Tag 1
Tag 2	00:00 bis 24:00	Erstellen des Ernährungstagebuchs Tag 2
Tag 3	00:00 bis 24:00	Erstellen des Ernährungstagebuchs Tag 3

Anmerkung: Tag 1: Unterteilt in Laborsitzung und Zeitraum der Erhebung des Ernährungstagebuchs über 3 Tage im Anschluss an die Laborsitzung (vgl. auch Tabelle 2). Tag 3 war im Regelfall ein Wochenendtag.

Die Aufwandsvergütung für die Probanden betrug 50 €, welche ihnen am Ende der Laborsitzung ausgehändigt wurden.

2.4 Versuchspersonen

Von den 140 Probanden, die an der Anamnesesitzung teilnahmen, waren 67 für die Laborsitzung geeignet. Die restlichen 73 Probanden waren entweder aus medizinischen (vgl. Ausschlusskriterien unter 2.3.1) oder aus persönlichen Gründen (zu zeitaufwendig oder mit dem Stundenplan nicht vereinbar) für die Studie ungeeignet. Bei zwei Probanden musste der Versuch abgebrochen werden, da kein Blut mehr aus der Verweilkanüle entnommen werden konnte. Zwei weitere Probanden nahmen lediglich an der Längsschnittstudie (vgl. Dissertation von Blicke, 2009) teil, auf die in dieser Arbeit nicht eingegangen wird.

Die untersuchten 63 Probanden waren junge, gesunde Studierende im Alter zwischen 18 und 35 Jahren. Das Alter der Probanden lag im Durchschnitt bei 24.57 Jahren (\pm SEM: 0.35) und der durchschnittliche BMI bei 23.12 kg/m² (\pm SEM: 0.47). Hinsichtlich der beiden Parameter, Alter und BMI, zeigten sich auch im Intergruppenvergleich mittels Mann-Whitney U-Test keine Unterschiede zwischen der Insulin- und der Placebogruppe (Alter: $U = 433.50$, $z = -0.865$, $p = 0.387$; BMI: $U = 489.00$, $z = -0.096$, $p = 0.923$).

Von den insgesamt 31 männlichen Probanden erhielten 15 Insulin und 16 das Placebo.

Innerhalb der Insulingruppe waren die Männer im Durchschnitt 24.80 Jahre (\pm SEM: 0.49) alt und hatten einen durchschnittlichen BMI von 23.77 kg/m² (\pm SEM: 0.88). Die männlichen Probanden der Placebogruppe waren durchschnittliche 25.19 Jahre (\pm SEM: 0.78) alt und hatten einen BMI von 23.29 kg/m² (\pm SEM: 0.92).

An der Studie nahmen 32 weibliche Probanden teil, von denen in beiden Gruppen jeweils 16 vertreten waren. Innerhalb der weiblichen Insulingruppe betrug das durchschnittliche Alter 23.63 Jahre (\pm SEM: 0.66) und der BMI 22.45 kg/m² (\pm SEM: 0.78). Die weiblichen Probanden innerhalb der Placebogruppe waren im Durchschnitt 24.69 Jahre (\pm SEM: 0.81) alt und hatten einen BMI von 22.99 kg/m² (\pm SEM: 1.23).

2.5 Zeitliche und örtliche Durchführung

Die Erhebung der Daten der Laborsitzung erfolgte im Zeitraum vom 13.02.2006 bis 20.11.2007.

Sowohl die Anamnese- als auch die Laborsitzung fanden im DDZ in Düsseldorf statt. Der Versuchsraum war 28 m² groß, fensterlos und klimatisiert mit einer konstanten Temperatur von 21 °C. Da jeweils zwei Probanden parallel (mit einem zeitlichen Abstand von 35 min) untersucht wurden, umfasste der Versuchsaufbau zwei Entspannungsstühle, die durch eine Trennwand voneinander separiert wurden, zwei Computer, einen Verstärker und vier Instrumentenwagen. Auf den Instrumentenwagen befanden sich die Materialien für die Blutabnahme sowie eine Styroporbox mit Eis zur Aufbewahrung der großen Blutproben und die Nasensprayflasche. Die Einhaltung der zeitlichen Abfolge der einzelnen Versuchsunterpunkte wurde mit Hilfe eines computergesteuerten Timerprogramms ermöglicht.

2.6 Versuchsleiter

Versuchsleiterinnen der Laborstudie waren eine Doktorandin der Psychologie (MB) und zwei Doktorandinnen der Humanmedizin (MF, DR). Die ärztliche Aufsicht oblag Herrn Prof. Dr. W. A. Scherbaum, dem Leiter der Klinik für Endokrinologie, Diabetologie und Rheumatologie der Universitätsklinik Düsseldorf. Die Verfasserin dieser Arbeit (SL) hat die im DFG-Gesamtprojekt erhobenen Daten zum Essverhalten unter natürlichen Bedingungen ausgewertet und auch in Beziehung gesetzt zu einzelnen Datensätze der im Labor erhobenen Daten.

2.7 Auswertung

2.7.1 Übersicht

Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung des Statistikprogramms SPSS (Version 19.0) und umfasste deskriptive sowie inferenzstatistische Auswertungen.

Zunächst wurden die deskriptiv-statistischen Kennwerte (Mittelwert [M] und Standardfehler [SEM]) zur Kennzeichnung der zentralen Tendenz und der Streuung pro Versuchsbedingung (Insulin vs. Placebo) für die verschiedenen abhängigen Variablen berechnet. Dabei wurden diese Berechnungen für die Gesamtgruppe als auch getrennt für insulin- vs. placebobehandelte Subgruppen der Männer und Frauen durchgeführt. Der jeweilige Mittelwert wurde anschließend zwischen den insulinbehandelten Probanden (INS) der Experimentalgruppe und den placebobehandelten Probanden (Plac) der Kontrollgruppe verglichen und Gruppenunterschiede wurden inferenzstatistisch überprüft. Im zweiten Schritt wurde dieser Vergleich getrennt für die Gruppe der Männer und Frauen durchgeführt. Folgende abhängige Variablen wurden ausgewertet:

- (a) die Gesamtkalorienmenge an den Tagen 1 bis 3 (vgl. 2.7.2)
- (b) die prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß an den Tagen 1 bis 3 (vgl. 2.7.3)
- (c) das *Meal pattern* an Tag 1 (vgl. 2.7.4)

Dabei gilt das Hauptinteresse der Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen am Versuchstag (Tag 1). Tag 2 wird explorativ im Hinblick auf mögliche langfristige Wirkungen untersucht. Tag 3 stellt ein Referenztag dar.

Die Intergruppenvergleiche (Insulin vs. Placebo) wurden mittels Mann-Whitney U-Test (als parameterfreiem Verfahren) durchgeführt, da sich in den Prüfungen auf Normalverteilung einzelne Abweichungen der abhängigen Variablen von einer Normalverteilung ergab. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5\%$ gesetzt sofern nicht anders angegeben. Für die Gruppenvergleiche getrennt nach Männern und Frauen werden exakte p -Werte berichtet.

Zur Prüfung bivariater korrelativer Zusammenhänge wurden Rangkorrelationen nach Spearman (r_s) berechnet, und zwar für den Zusammenhang zwischen (a) der Gesamtkalorienmenge an Tag 1 (ohne die Testmahlzeit) und (b) den endokrinen Parametern: Insulin, Leptin oder Östradiol.

Darüber hinaus wurden Rangkorrelationen nach Spearman (r_s) für den Zusammenhang zwischen (a) den prozentualen Nährstoffanteilen von Fett bzw. Kohlenhydraten und (b) den endokrinen Parametern: Insulin, Leptin oder Östradiol berechnet.

Auf Grund der hohen intraindividuellen Variabilität der Hormonspiegel wurde für die Berechnungen der Hormonwerte jeweils die Summe der Differenzen zur Baseline herangezogen, welche im Folgenden als kumulierte Differenz bezeichnet wird.

Bei der Untersuchung der Gesamtkalorienmenge an den Tagen 1 bis 3 sowie der prozentualen Nährstoffzusammensetzung dieser an Tag 1 wurde zusätzlich die Effektstärke nach Cohen (d) zur Beurteilung signifikanter Mittelwertunterschiede bestimmt.

Bei der Untersuchung des „Meal pattern“ an Tag 1 wurde als Verfahren für Intragruppenvergleiche zusätzlich die Friedman-Rangvarianzanalyse durchgeführt. In dieser wurde in den Versuchsgruppen (Insulin vs. Placebo) die Nahrungsaufnahme an vier Messzeitpunkten verglichen.

2.7.2 Gesamtkalorienmenge an den Tagen 1 bis 3

Wie unter 2.2.1.2 dargestellt, wurde bei jedem Probanden für jeden der drei Tage die Kalorienzahl der einzelnen Mahlzeiten bestimmt und addiert (an Tag 1 ohne die Testmahlzeit), sodass sich die aufgenommene Gesamtkalorienmenge für den jeweiligen Tag ergab. Aus diesen Rohdaten wurden zunächst die deskriptiv-statischen Kennwerte (M , SEM) für die einzelnen Subgruppen bestimmt und anschließend Interguppenvergleiche mittels Mann-Whitney U-Test vorgenommen. Diese Vergleiche dienten dazu, die Hypothese zu überprüfen, dass die Probanden nach Insulingabe weniger Kalorien konsumieren als nach Placebogabe. Darüber hinaus wurde – durch den Vergleich der insulin- vs. placebobehandelten Probanden getrennt nach Geschlecht (Männer vs. Frauen) – überprüft, ob es einem nahrungsaufnahmereduzierenden Effekt durch Insulin gibt, welcher nur auf die männlichen Probanden zurückzuführen ist. Das Hauptinteresse gilt dabei, dem Essverhalten unter natürlichen Bedingungen an Tag 1. Tag 2 dient Prüfung möglicher längerfristiger Veränderungen des Essverhaltens, wohingegen Tag 3 lediglich als Referenztag dargestellt wird.

2.7.3 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß

Zur Überprüfung der Hypothese, dass die Probanden nach Insulingabe im Labor auch unter den nachfolgenden natürlichen Nahrungsaufnahmebedingungen außerhalb des Labors weniger Fett konsumieren als die Probanden der Placebogruppe, wurde für jeden der drei Tage die prozentuale Nährstoffzusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus den drei

Makronährstoffen (Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß) berechnet und die deskriptiv-statistischen Kennwerte (M , SEM) für die einzelnen Subgruppen bestimmt. Um zu prüfen, ob es signifikante Unterschiede im Fettkonsum zwischen den Subgruppen gibt, wurden Intergruppenvergleiche mittels Mann-Whitney U-Test vorgenommen. Gleichzeitig wurden die entsprechenden Vergleiche – auch aufgrund der gegenseitigen Abhängigkeit prozentualer Werte der einzelnen Makronährstoffe an der Gesamtkalorienaufnahme – auch zum prozentualen Kohlenhydratkonsum vorgenommen. Dies erfolgte insbesondere auch in Anlehnung an die tierexperimentellen Befunde von van Dijk et al. (1997). Aufgrund der Testhäufung (Vergleich des prozentualen Anteils der Fett- und der Kohlenhydrataufnahme) wurde das α -Niveau auf $\alpha^* = \alpha/2 = 0.025$ adjustiert. Nur zur Deskription werden auch die p-Werte der Intergruppenvergleiche zum prozentualen Anteil der Proteine an der Gesamtkalorienaufnahme berichtet (zweiseitige p-Werte). Sie haben keinen inferenzstatistischen, sondern einen rein deskriptiven Charakter.

2.7.4 *Meal pattern* an Tag 1

Um das *Meal pattern* an Tag 1 zu untersuchen, wurden zwei Berechnungen durchgeführt. Zum einen (a) wurde der zeitliche Abstand zwischen Ende der Testmahlzeit im Labor und erster nachfolgender Nahrungsaufnahme außerhalb des Labors ab Ende der Testmahlzeit an Tag 1 errechnet, des weiteren (b) wurde die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme über Tag 1 dargestellt.

(a) Zeitlicher Abstand zwischen Testmahlzeit im Labor und erster Nahrungsaufnahme außerhalb des Labors

Um die Hypothese zu prüfen, dass Insulin im Vergleich zu Placebo einen stärker sättigenden Effekt auf die Probanden hat und somit erst zu einer verzögerten ersten Nahrungsaufnahme außerhalb des Labors führt, wurde diese Latenz ermittelt, die Gruppenmittelwerte (M , SEM) bestimmt und einem Intergruppenvergleich mittels Mann Whitney U-Test unterzogen.

(b) Zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme über Tag 1

Um zu untersuchen, ob der erwartete nahrungsaufnahmereduzierende Effekt von Insulin im Vergleich zu Placebo über den Tag anhält, wurde die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme über Tag 1 hinweg dargestellt. Hierzu wurde der Zeitabschnitt ab Ende der Testmahlzeit (12:00) in drei 3-stündige und ein 4-stündiges Intervall unterschieden und durch Addition des prozentualen Konsums aus den Einzelstunden ein kumulierter Score bestimmt:

- ♦ Mittag von 12:00 – 14:59 Uhr
- ♦ Nachmittag von 15:00 – 17:59 Uhr
- ♦ früher Abend von 18:00 – 20:59 Uhr
- ♦ später Abend von 21:00 – 23:59 Uhr

Für die genannten Zeiträume wurden die deskriptiven Kennwerte (M , SEM) bestimmt und der Vergleich der Insulin- vs. Placebogabe sowohl für die Gesamtgruppe als auch getrennt in Subgruppen der Männer und Frauen sowie Intergruppenvergleiche für die vier zusammengefassten Abschnitte berechnet.

Zusätzlich wurden Friedman-Rangvarianzanalysen als Verfahren für Intragruppenvergleiche durchgeführt. In diesen wurde in den Versuchsgruppen (Insulin vs. Placebo), sowohl für die Gesamtgruppe als auch getrennt nach Männern und Frauen, die Nahrungsaufnahme über die vier Messzeitpunkte verglichen.

2.7.5 Paarweise Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und den Hormonen: Insulin, Leptin und Östrogen

Zur Prüfung ob sich pro Versuchsbedingung korrelative Zusammenhänge zwischen der Gesamtkalorienmenge an Tag 1 und den in der Laborsitzung erhobenen kumulierten Differenzen (vgl. 2.7) der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen aufzeigen lassen, wurden Rangkorrelationen nach Spearman (r_s) berechnet. Diese wurden getrennt nach Männern und Frauen für beide Versuchsbedingungen (Insulin vs. Placebo) geprüft. Im Anschluss wurde für jede Subgruppe (Gruppe der Männer bzw. Gruppe der Frauen) der Unterschied zwischen den Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebobedingung mittels Chi^2 -Test nach Krämer (1975) geprüft.

2.7.6 Paarweise Korrelation zwischen den prozentualen Nährstoffanteilen von Fett und Kohlenhydraten und den Hormonen: Insulin, Leptin und Östrogen

Um korrelative Zusammenhänge zwischen den prozentualen Nährstoffanteilen von Fett und Kohlenhydraten an Tag 1 und den in der Laborsitzung erhobenen kumulierten Differenzen (vgl. 2.7) der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen zu prüfen, wurden Rangkorrelationen nach Spearman (r_s) berechnet. Diese wurden getrennt nach Männern und Frauen für beide Versuchsbedingungen (Insulin vs. Placebo) geprüft. Im Anschluss wurde für jede Subgruppe (Gruppe der Männer bzw. Gruppe der Frauen) der Unterschied zwischen den

Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebobedingung mittels Chi²-Test nach Krämer (1975) auf Signifikanz geprüft.

3. Ergebnisse

Wie unter 1.7 beschrieben, gliedert sich die der Ergebnisteil anhand der Hypothesen in 5 Unterpunkte. Unter 3.1 wird die Gesamtkalorienmenge unter Insulin- vs. Placebogabe in der Gesamtgruppe und der Subgruppe der Männer und Frauen für jeden der drei Versuchstage verglichen. Die Ergebnisse zum Substanzeffekt auf die Nährstoffzusammensetzung an den drei Versuchstagen werden unter 3.2 dargestellt. Für Tag 1 wird zusätzlich das *Meal pattern* unter 3.3 untersucht. Unter 3.4 wird untersucht, ob sich an Tag 1 zusätzlich korrelative Zusammenhänge zwischen der Gesamtkalorienmenge und den in der Laborsitzung erhobenen peripheren Hormonspiegeln aufzeigen lassen. Darüber hinaus wird unter 3.5 untersucht, ob es korrelative Zusammenhänge zwischen dem prozentualen Fett- bzw. Kohlenhydratkonsum und den in der Laborsitzung erhobenen peripheren Hormonspiegeln gibt. Basierend auf den Ergebnissen von Van Dijk und Kollegen (1997; vgl. 1.5.2.2), welche das Essverhalten von Ratten nach einem 21-stündigem Intervall untersuchten, liegt das Hauptinteresse in der Auswertung des natürlichen Essverhaltens an Tag 1 im Anschluss an die Versuchssitzung (ab 12:00 bzw. 12:45). Ergänzend wird der komplette Tag 2 ausgewertet, um mögliche langfristige Veränderungen des Essverhaltens zu erfassen. Tag 3 (= der dem Hauptversuchstermin folgende Wochenendtag) wird zusätzlich ausgewertet, um das Essverhalten in einem hinreichendem zeitlichen Abstand zur Gabe der intranasalen Substanz in den Versuchsgruppen vergleichen zu können und eine unbehandelte Phase zu beschreiben. Tag 3 dient also als eine Art Referenztag. Damit lassen sich mögliche generelle Unterschiede im Essverhalten zwischen den Gruppen auffinden, welche deren treatmentunabhängige Vergleichbarkeit erschweren könnte.

3.1 Gesamtkalorienmenge

3.1.1 Gesamtkalorienmenge an Tag 1

Die Probanden der Experimentalgruppe (INS) nahmen an Tag 1, d. h. im Anschluss an die Laborsitzung, im Mittel (\pm SEM) 1590.4 ± 107.7 kcal zu sich und die Probanden der Placebogruppe 1603.5 ± 114.2 kcal (siehe Abbildung 4A). Entgegen der Erwartung zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Bedingungen ($U = 488.0$, $z = -0.11$, $p = 0.456$, $d = -0.02$). Abbildung 4A zeigt den Mittelwert (M) und den Standardfehler (SEM) der Gesamtkalorienaufnahme der Gesamtgruppe in Abhängigkeit von der Substanz.

Auch beim Vergleich der Insulin- vs. Placebowirkung getrennt für Männer und Frauen konnte die für Männer erwartete verminderte Nahrungsaufnahme unter Insulingabe im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht nachgewiesen werden (INS: $M = 1733.1 \pm 183.7$ kcal, Plac: $M = 1784.8$

± 204.9 kcal, $U = 117.0$, $z = -0.119$, $p = 0.461$, $d = -0.07$) (Abbildung 4B). Bei den Frauen zeigte sich, wie erwartet, kein Unterschied zwischen den Substanzgruppen (INS: $M = 1456.6 \pm 113.8$ kcal, Plac: $M = 1422.3 \pm 86.6$ kcal, $U = 127.0$, $z = -0.038$, $p = 0.985$, zweiseitig, $d = 0.08$) (Abbildung 4C). Für den Gruppenvergleich getrennt nach Männern und Frauen werden jeweils exakte p -Werte berichtet.

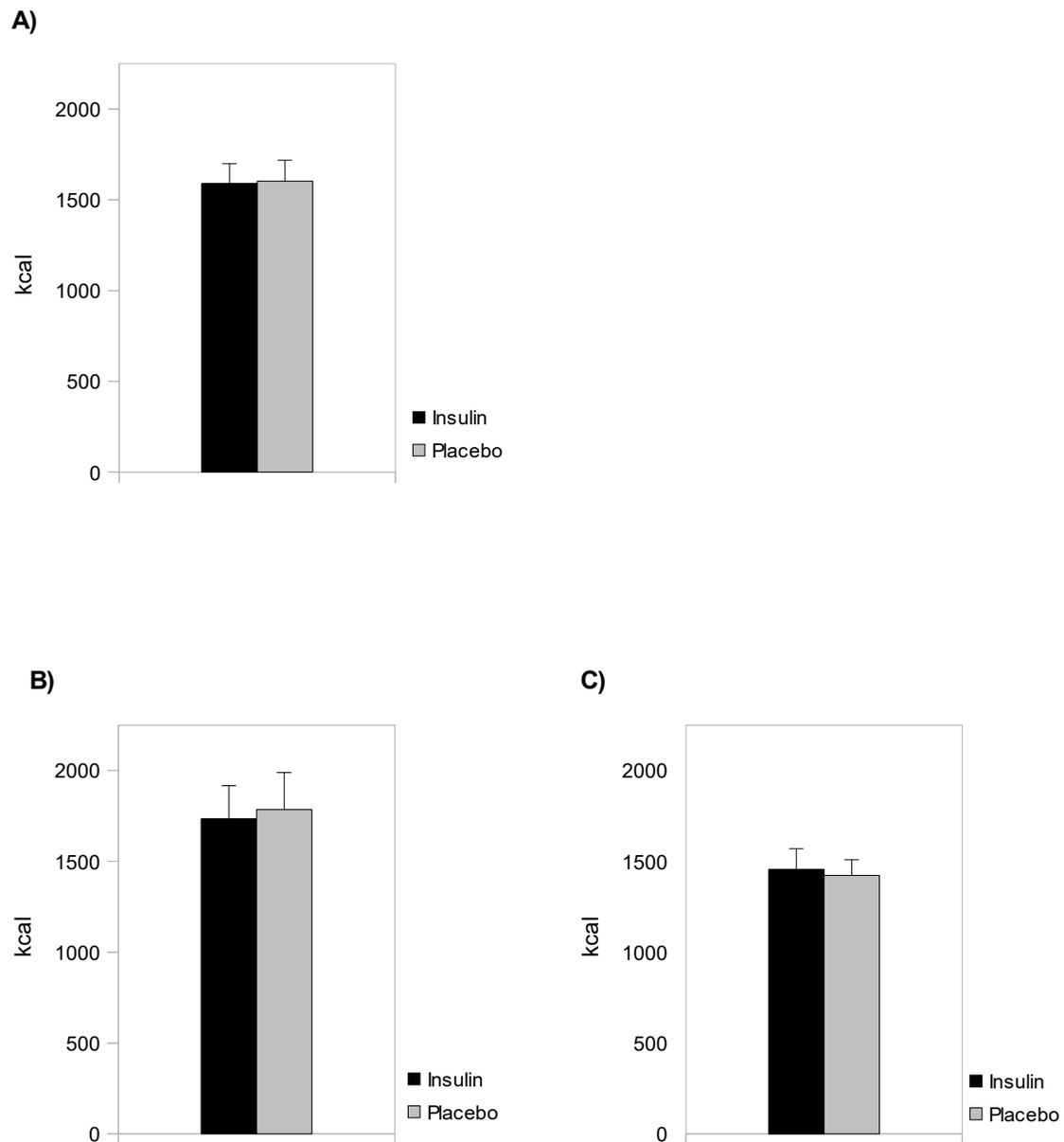


Abbildung 4. Gesamtkalorienaufnahme (in kcal) an Tag 1 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwert (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

Damit lässt sich der in der Testmahlzeit unter Laborbedingungen nachgewiesene Effekt einer nahrungsaufnahmereduzierenden Wirkung von intranasalem Insulin bei Männern (vgl. Tabelle 5) im anschließenden Essverhalten unter natürlichen Bedingungen nicht mehr nachweisen. Im Gegensatz zu den männlichen Probanden zeigten Frauen unter intranasaler Insulingabe in der Testmahlzeit tendenziell eine höhere Kalorienaufnahme als die placebobehandelte Kontrollgruppe.

Tabelle 5.

Übersicht über die Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) der, in der Testmahlzeit (unter Laborbedingungen) konsumierten Kilokalorien (kcal) in den Gruppen Insulin und Placebo sowie Ergebnisse des Mann-Whitney U-Test (exakte p -Werte) für die Gesamtgruppe sowie getrennt nach den Subgruppen der Männer und Frauen aus Blicke (2009).

	Testmahlzeit in kcal		exakte p -Werte (Mann-Whitney U-Test, einseitig)
	Insulin	Placebo	
Gesamtgruppe	231.1 \pm 34.7	281.9 \pm 43.6	$p = 0.330$
Männer	253.1 \pm 64.4	404.6 \pm 70.1	$p = 0.051$
Frauen	210.4 \pm 31.1	159.3 \pm 30.4	$p = 0.098$

3.1.2 Gesamtkalorienmenge an Tag 2

Am zweiten Versuchstag zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Kalorienaufnahme unter natürlichen Bedingungen in der Gesamtgruppe (INS: 2066.4 \pm 147.0 kcal, Plac: 2111.1 \pm 143.4 kcal, $U = 486.0$, $z = -0.137$, $p = 0.446$, $d = -0.05$) bzw. in der Subgruppe der Männer (INS: 2330.4 \pm 217.9 kcal, Plac: 2469.6 \pm 194.0 kcal, $U = 109.0$, $z = -0.435$, $p = 0.341$, $d = -0.17$). Frauen der Insulin- und Placebogruppe zeigten ebenfalls eine vergleichbare Kalorienaufnahme (INS: 1818.9 \pm 183.7 kcal, Plac: 1752.6 \pm 173.8 kcal, $U = 123.0$, $z = -0.188$, $p = 0.867$, zweiseitig, $d = 0.09$). Bei den berichteten p -Werten der Männer bzw. Frauen handelt es sich erneut um exakte p -Werte. Abbildung 5 zeigt die deskriptiven Kennwerte (M , SEM) nach Insulin- vs. Placebogabe zum einen für die Gesamtgruppe (Abbildung 5A) und zum anderen für die Subgruppen der Männer (Abbildung 5B) und Frauen (Abbildung 5C).

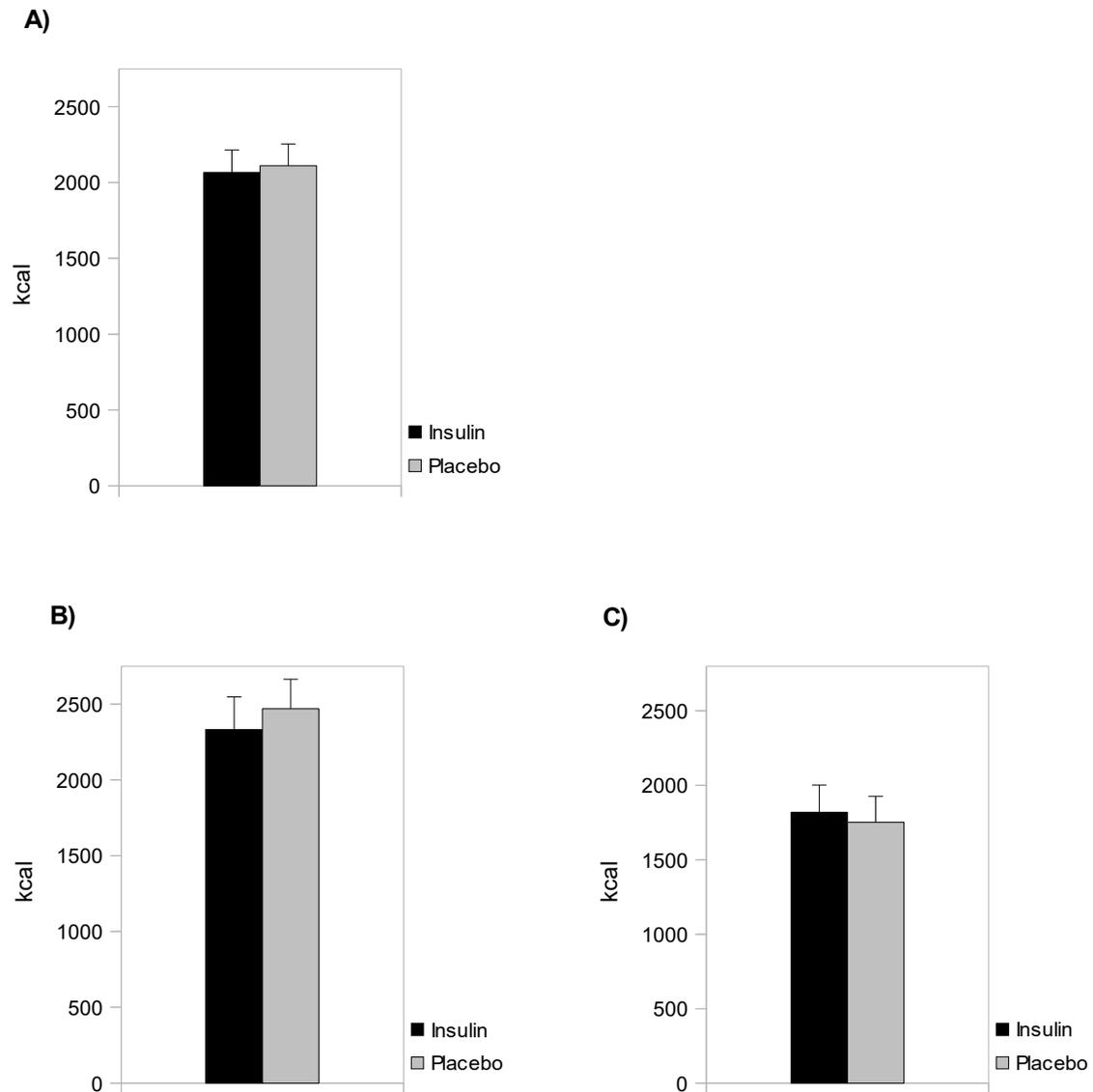


Abbildung 5. Gesamtkalorienaufnahme (in kcal) an Tag 2 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwert (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

3.1.3 Gesamtkalorienmenge an Tag 3

Am dritten Versuchstag, der durch seinen hinreichenden zeitlichen Abstand zur Substanzgabe in der Experimental- bzw. Kontrollgruppe einen Referenztag darstellt, ergaben sich erwartungsgemäß keine Hinweise auf Intergruppenunterschiede bezüglich der Gesamtkalorienmenge, weder in der Gesamtgruppe (INS: 2222.4 ± 160.3 kcal, Plac: 2032.1 ± 122.0 kcal, $U = 433.5$, $z = -0.655$, $p = 0.256$, $d = 0.24$) (Abbildung 6A) noch in der Gruppe

der Männer (INS: 2501.3 ± 249.3 kcal, Plac: 2379.5 ± 181.8 kcal, $U = 112.0$, $z = -0.316$, $p = 0.385$, $d = 0.14$) (Abbildung 6B). In der Gruppe der Frauen zeigte sich ebenfalls, wie erwartet, kein Unterschied zwischen den Substanzgruppen (INS: 1943.5 ± 182.3 kcal, Plac: 1684.6 ± 111.2 kcal, $U = 100.0$, $z = -0.791$, $p = 0.446$, zweiseitig, $d = 0.44$) (Abbildung 6C). Für den Gruppenvergleich getrennt nach Männern und Frauen werden erneut exakte p -Werte berichtet.

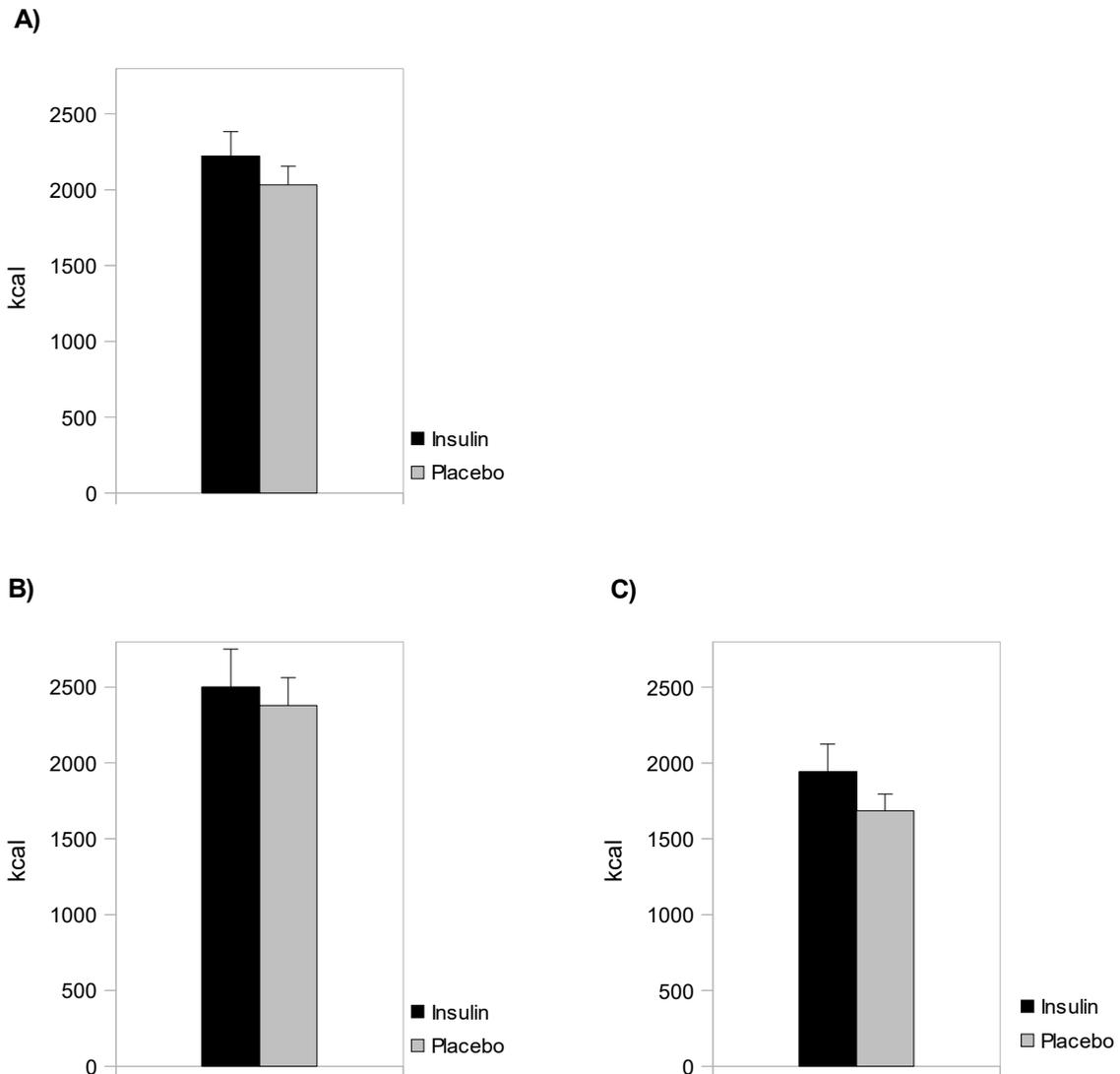


Abbildung 6. Gesamtkalorienaufnahme (in kcal) an Tag 3 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwert (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

3.2 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß

Um die Hypothese zu überprüfen, dass sich die im Tierexperiment erzielten Befunde einer Reduktion speziell des Fettkonsums nach zentraler Insulingabe (Chavez et al., 1996; Dijk et al., 1997) auch beim Menschen nachweisen lassen, wurde geprüft, ob insulinbehandelte Probanden einen prozentual niedrigeren Fettanteil – bezogen auf die Gesamtkalorienmenge – zu sich nehmen als die Probanden der Placebogruppe. Aufgrund der Interdependenz bei der Veränderung prozentualer Werte wurde zudem erwartet, dass sich die Versuchsgruppen auch in ihrem relativen Kohlenhydratkonsum unterscheiden und zwar dahingehend, dass insulinbehandelte Probanden einen höheren prozentualen Kohlenhydratkonsum zeigen als placebobehandelte Probanden. Dazu wurden für jeden der drei Tage Intergruppenvergleiche mittels Mann-Whitney U-Test berechnet und einer α -Adjustierung für die beiden Tests (Fettkonsum, Kohlenhydratkonsum) unterzogen. Die p -Werte der Intergruppenvergleiche zum prozentualen Proteinanteil an der Gesamtkalorienmenge werden nur zur Deskription berichtet; es handelt sich dabei um zweiseitige p -Werte, während bei den inferenzstatistischen Intergruppenvergleichen zu dem prozentualen Anteil des Fett- und Kohlenhydratkonsums auf den Hintergrund der gerichteten Hypothesen einseitige p -Werte berichtet werden. Dabei werden erneut beim Vergleich der Insulin- vs. Placeboeffekte bei Männern bzw. Frauen exakte p -Werte berichtet. Erneut gilt das Hauptinteresse der Nahrungsaufnahme an Tag 1 und 2, wobei Tag 3 den Referenztag darstellt.

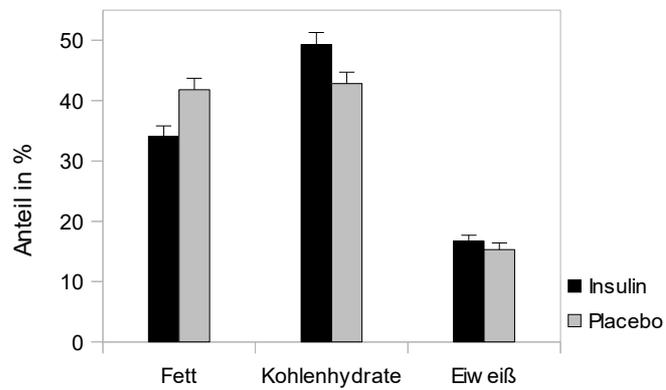
3.2.1 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung an Tag 1

Die Probanden der insulinbehandelten Gruppe zeigten an Tag 1 wie erwartet, einen niedrigeren prozentualen Fettkonsum (INS: $M = 34.1 \pm 1.7$ %, Plac: $M = 41.8 \pm 1.9$ %, $U = 293.5$, $z = -2.78$, $p = 0.003$, $d = -0.77$) und einen höheren prozentualen Kohlenhydratkonsum (INS: $M = 49.3 \pm 2.0$ %, Plac: $M = 42.8 \pm 1.9$ %, $U = 344.0$, $z = -2.09$, $p = 0.019$, $d = 0.59$). Auch auf dem Hintergrund der α -Adjustierung mit $\alpha^* = \alpha/n$ (also $\alpha^* = 0.05/2 = 0.025$) erreichten die beiden Gruppenunterschiede statistische Signifikanz. Beide Gruppen bezogen einen vergleichbaren Anteil ihrer Nährstoffzufuhr aus Eiweiß (INS: $M = 16.7 \pm 1.0$ %, Plac: $M = 15.3 \pm 1.1$ %, $U = 414.5$, $z = -1.12$, $p = 0.262$, zweiseitig, $d = 0.23$). Abbildung 7A zeigt die prozentuale Zusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus den Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß für die Gesamtgruppe an Tag 1 getrennt nach Substanzgruppen.

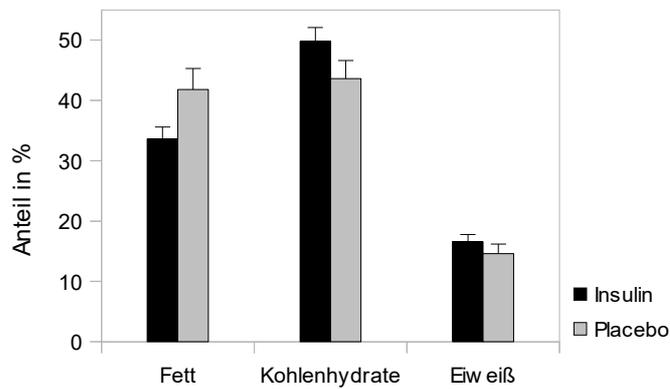
Bei der getrennten Analyse nach Geschlechtern zeigte sich ein vergleichbares Muster. So bestand bei den Männern der Insulingruppe die Gesamtkalorienmenge durchschnittlich zu 33.6 ± 2.0 % aus Fett, zu 49.8 ± 2.3 % aus Kohlenhydraten und zu 16.6 ± 1.2 % aus Eiweiß

im Vergleich zur Placebogruppe mit einem durchschnittlich höheren Fettanteil ($41.8 \pm 3.5 \%$), einem geringeren prozentualen Anteil an Kohlenhydraten ($43.6 \pm 3.0 \%$) und einem vergleichbaren Eiweißanteil ($14.6 \pm 1.6 \%$). Die Frauen der Insulingruppe nahmen durchschnittlich $34.6 \pm 2.6 \%$ Fett, $48.7 \pm 3.4 \%$ Kohlenhydrate und $16.7 \pm 1.6 \%$ Eiweiß zu sich, wohingegen die Placebogruppe mit durchschnittlich $41.9 \pm 1.8 \%$ mehr Fett und mit $42.0 \pm 2.3 \%$ weniger Kohlenhydrate aufnahmen, bei einem mit $16.1 \pm 1.4 \%$ vergleichbaren Eiweißanteil. So nahmen sowohl die Männer (Fett: $U = 73.0$, $z = -1.858$, $p = 0.033$, $d = -0.73$, Kohlenhydrate: $U = 82.0$, $z = -1.502$, $p = 0.070$, $d = 0.58$) als auch die Frauen (Fett: $U = 74.0$, $z = -2.035$, $p = 0.022$, $d = -0.82$, Kohlenhydrate: $U = 92.0$, $z = -1.357$, $p = 0.092$, $d = 0.58$) unter Insulingabe relativ weniger Fett und mehr Kohlenhydrate zu sich als unter Placebogabe. Allerdings wurde – unter Beachtung der α -Adjustierung – nur der geringere relative Fettkonsum der insulinbehandelten im Vergleich zu den placebobehandelten Frauen signifikant. Abbildung 7 zeigt die prozentuale Zusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus den Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß getrennt nach Männern (Abbildung 7B) und Frauen (Abbildung 7C).

A)



B)



C)

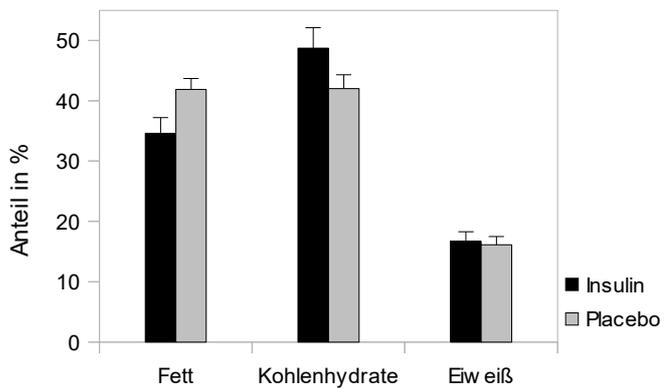


Abbildung 7. Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß an Tag 1 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

Auf dem Hintergrund, dass sich die absolute Kalorienzufuhr zwischen den insulin- vs. placebobehandelten Probanden an Tag 1 nicht unterscheidet, wohl aber die prozentualen Anteile der verschiedenen Nährstoffklassen wurde zusätzlich untersucht, ob sich das für die prozentuale Nährstoffverteilung beschriebene Muster (qualitativ) auch in der absoluten Zufuhr (Gramm) der Nährstoffe Fett und Kohlenhydrate wiederfindet.

Betrachtet man die absoluten Werte in Gramm der konsumierten Makronährstoffe, so zeigte sich, dass in der Gesamtgruppe unter Insulingabe nur andeutungsweise ein geringerer Fettkonsum vorlag ($U = 405.5$, $z = -1.244$, $p = 0.107$). Dieser erreichte jedoch keine statistische Signifikanz. Bei der getrennten Analyse nach Männern und Frauen ließ sich ebenfalls kein signifikanter statistischer Unterschied zwischen der insulin- vs. placebobehandelten Gruppe feststellen (Männer: $U = 101.0$, $z = -0.751$, $p = 0.235$; Frauen: $U = 102.5$, $z = -0.961$, $p = 0.171$). Bei der Untersuchung der absoluten Kohlenhydrataufnahme in der Gesamtgruppe ($U = 396,5$, $z = -1.368$, $p = 0.086$) zeigte sich richtungsmäßig eine vermehrte Aufnahme unter Insulingabe, welche auf die Gruppe der Frauen zurückzuführen war (Männer: $U = 108.0$, $z = -0.474$, $p = 0.327$; Frauen: $U = 85.0$, $z = -1.621$, $p = 0.055$) (vgl. Tabelle 6).

Tabelle 6.

Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) der absolut konsumierten Menge der drei Makronährstoffe Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß in Gramm (g) an Tag 1 in der Gruppe Insulin vs. Placebo für die Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen sowie p -Werte (Mann-Whitney U-Test) für die Intergruppenvergleiche der insulin- vs. placebobehandelten Probanden. Für die Gruppenvergleiche getrennt nach Männern und Frauen werden exakte p -Werte berichtet.

	Fett (g)	p -Wert (eins.)	Kohlenhydrate (g)	p -Wert (eins.)	Eiweiß (g)	p -Wert (zweis.)
Gesamtgruppe						
Insulin	63.75 \pm 5.98	0.107	182.93 \pm 11.32	0.086	69.13 \pm 7.36	0.518
Placebo	75.58 \pm 7.28		165.27 \pm 12.66		64.41 \pm 7.54	
Männer						
Insulin	68.77 \pm 9.81	0.235	201.81 \pm 16.40	0.327	73.53 \pm 12.05	0.626
Placebo	83.93 \pm 13.72		184.94 \pm 19.48		70,44 \pm 13.69	
Frauen						
Insulin	59.05 \pm 7.15	0.171	165.22 \pm 14.77	0.055	65.01 \pm 8.98	0.724
Placebo	67.22 \pm 4.62		145.60 \pm 15.21		58.38 \pm 6.51	

3.2.2 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung an Tag 2

An Tag 2 zeigten sich in der Gesamtgruppe keine Hinweise auf Intergruppenunterschiede bezüglich der relativen Anteile der beiden Makronährstoffe Fett (INS: 38.1 ± 1.8 %, Plac: 38.9 ± 2.1 %, $U = 462.5$, $z = -0.461$, $p = 0.323$, $d = -0.08$) und Kohlenhydrate (INS: 45.9 ± 1.9 %, Plac: 46.6 ± 1.9 %, $U = 494.0$, $z = -0.027$, $p = 0.489$, $d = -0.07$) an der Gesamtkalorienmenge (vgl. Abbildung 8A). Auch der Eiweißanteil an der Gesamtkalorienmenge war bei beiden Substanzgruppen vergleichbar (INS: 16.1 ± 1.1 %, Plac: 14.5 ± 0.8 %, $U = 438.5$, $z = -0.791$, $p = 0.429$, zweiseitig, $d = 0.29$). Abbildung 8A zeigt die prozentuale Zusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus den Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß für die Gesamtgruppe an Tag 2 in Abhängigkeit von der Substanz.

Bei der getrennten Betrachtung nach den Geschlechtern, zeigte sich hingegen in der Gruppe der Männer in der Insulin- im Vergleich zur Placebogruppe ein signifikant geringerer prozentualer Anteil des Fettkonsums (INS: 36.0 ± 2.8 %, Plac: 43.8 ± 2.3 %, $U = 60.5$, $z = -2.352$, $p = 0.009$, $d = -0.78$) an der Gesamtkalorienaufnahme. Der Kohlenhydratanteil an der Gesamtkalorienmenge war hingegen höher (INS: 45.0 ± 3.1 %, Plac: 41.5 ± 2.3 %, $U = 85.5$, $z = -1.364$, $p = 0.088$, $d = 0.32$), verfehlte jedoch unter Beachtung der α -Adjustierung (vgl. 3.2.1) das Signifikanzniveau.

In der Gruppe der Frauen zeigte sich ein höherer prozentualer Anteil von Fett (INS: 40.0 ± 2.1 %, Plac: 33.9 ± 3.0 %) an der Gesamtkalorienaufnahme bei einem geringeren Anteil an Kohlenhydraten (INS: 46.7 ± 2.4 %, Plac: 51.7 ± 2.6 %). Eine inferenzstatistische Überprüfung wurde aufgrund dieses, den Hypothesen richtungsmäßig entgegengerichteten, Ergebnismusters nicht vorgenommen. Abbildung 8 zeigt die prozentuale Zusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus den Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

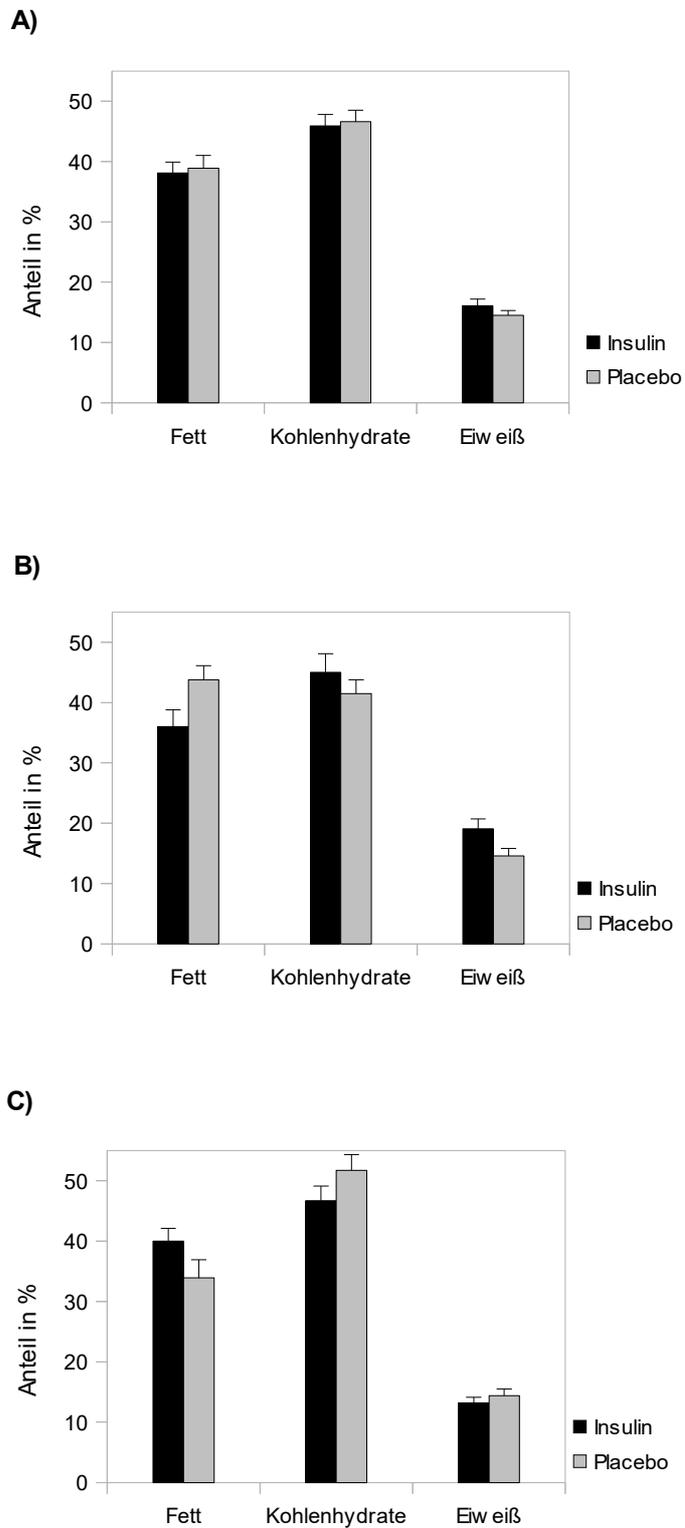


Abbildung 8. Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß an Tag 2 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

Betrachtet man die absoluten Werte der konsumierten Makronährstoffe, zeigte sich, dass es in der Gesamtgruppe unter Insulingabe im Vergleich zur Placebogruppe keine Unterschiede in der Nährstoffzusammensetzung gab (Fett: $U = 468.5$, $z = -0.378$, $p = 0.353$; Kohlenhydrate: $U = 490.0$, $z = -0.082$, $p = 0.467$). Bei der getrennten Analyse nach Männern und Frauen zeigte sich jedoch ein qualitativ vergleichbares Muster, wie bei der Untersuchung der prozentualen Makronährstoffzusammensetzung. So nahmen die Männer unter Insulin vs. Placebo auch absolut weniger Fett zu sich ($U = 83.5$, $z = -1.443$, $p = 0.076$), wohingegen die Gruppe der Frauen unter Insulin mehr Fett aufnahmen ($U = 91.0$, $z = -1.394$, $p = 0.086$). Allerdings erreichte – unter Beachtung der α -Adjustierung (vgl. 3.2.1) – keines dieser Ergebnisse das Signifikanzniveau. Bei der Untersuchung der absoluten Kohlenhydrataufnahme gab es bei beiden Geschlechtern keinen Unterschied zwischen Insulin- und Placebogabe (Männer: $U = 108.0$, $z = -0.474$, $p = 0.327$; Frauen: $U = 109.0$, $z = -0.716$, $p = 0.246$) (vgl. Tabelle 7).

Tabelle 7.

Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) der absolut konsumierten Menge der drei Makronährstoffe Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß in Gramm (g) an Tag 2 in der Gruppe Insulin vs. Placebo für die Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen sowie p -Werte (Mann-Whitney U-Test) für die Intergruppenvergleiche der insulin- vs. placebobehandelten Probanden. Für die Gruppenvergleiche getrennt nach Männern und Frauen werden exakte p -Werte berichtet.

	Fett (g)	p -Wert (eins.)	Kohlenhydrate (g)	p -Wert (eins.)	Eiweiß (g)	p -Wert (zweis.)
Gesamtgruppe						
Insulin	89.39 \pm 8.17	0.353	227.63 \pm 19.89	0.467	86.74 \pm 9.13	0.582
Placebo	97.16 \pm 10.2		227.16 \pm 16.69		81.28 \pm 8.72	
Männer						
Insulin	98.65 \pm 14.61	0.076	252.71 \pm 25.71	0.327	106.56 \pm 11.97	0.446
Placebo	122.44 \pm 12.86		241.52 \pm 26.57		100.16 \pm 15.27	
Frauen						
Insulin	80.71 \pm 7.84	0.086	204.11 \pm 29.64	0.246	68.16 \pm 12.24	0.897
Placebo	71.88 \pm 13.4		212.8 \pm 20.45		62.4 \pm 5.78	

3.2.3 Prozentuale Nährstoffzusammensetzung an Tag 3

An Tag 3 zeigten sich – wie für den Referenztag erwartet – in der Gesamtgruppe keine Hinweise auf Intergruppenunterschiede bezüglich der relativen Anteile der beiden Makronährstoffe Fett (INS: 37.8 ± 1.8 %, Plac: 37.4 ± 1.6 %, $U = 464.5$, $z = -0.218$, $p = 0.414$, $d = 0.4$) und Kohlenhydrate (INS: 46.5 ± 2.0 %, Plac: 44.5 ± 1.6 %, $U = 425.5$, $z = -0.768$, $p = 0.222$, $d = 0.20$) an der Gesamtkalorienmenge (vgl. Abbildung 9A). Auch beim Vergleich der Insulin- vs. Placebowirkung getrennt für die Subgruppen der Männer (vgl. Abbildung 9B) und Frauen (vgl. Abbildung 9C) zeigte sich kein Unterschied im prozentualen Fett- (Männer: INS: 37.0 ± 2.1 %, Plac: 36.0 ± 2.5 %, $U = 113.0$, $z = -0.277$, $p = 0.400$, $d = 0.11$; Frauen: INS: 38.6 ± 3.0 %, Plac: 38.8 ± 2.0 %, $U = 116.5$, $z = -0.138$, $p = 0.446$, $d = -0.02$) bzw. Kohlenhydratkonsum (Männer: INS: 46.2 ± 2.4 %, Plac: 45.4 ± 2.4 %, $U = 107.5$, $z = -0.494$, $p = 0.313$, $d = 0.8$; Frauen: INS: 46.9 ± 3.3 %, Plac: 43.7 ± 2.2 %, $U = 106.0$, $z = -0.553$, $p = 0.300$, $d = 0.29$) zwischen den Substanzgruppen. In Abbildung 9 ist die prozentuale Zusammensetzung der Gesamtkalorienmenge aus den Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß in der Gesamtgruppe (A) sowie getrennt nach Männern (B) und Frauen (C) dargestellt.

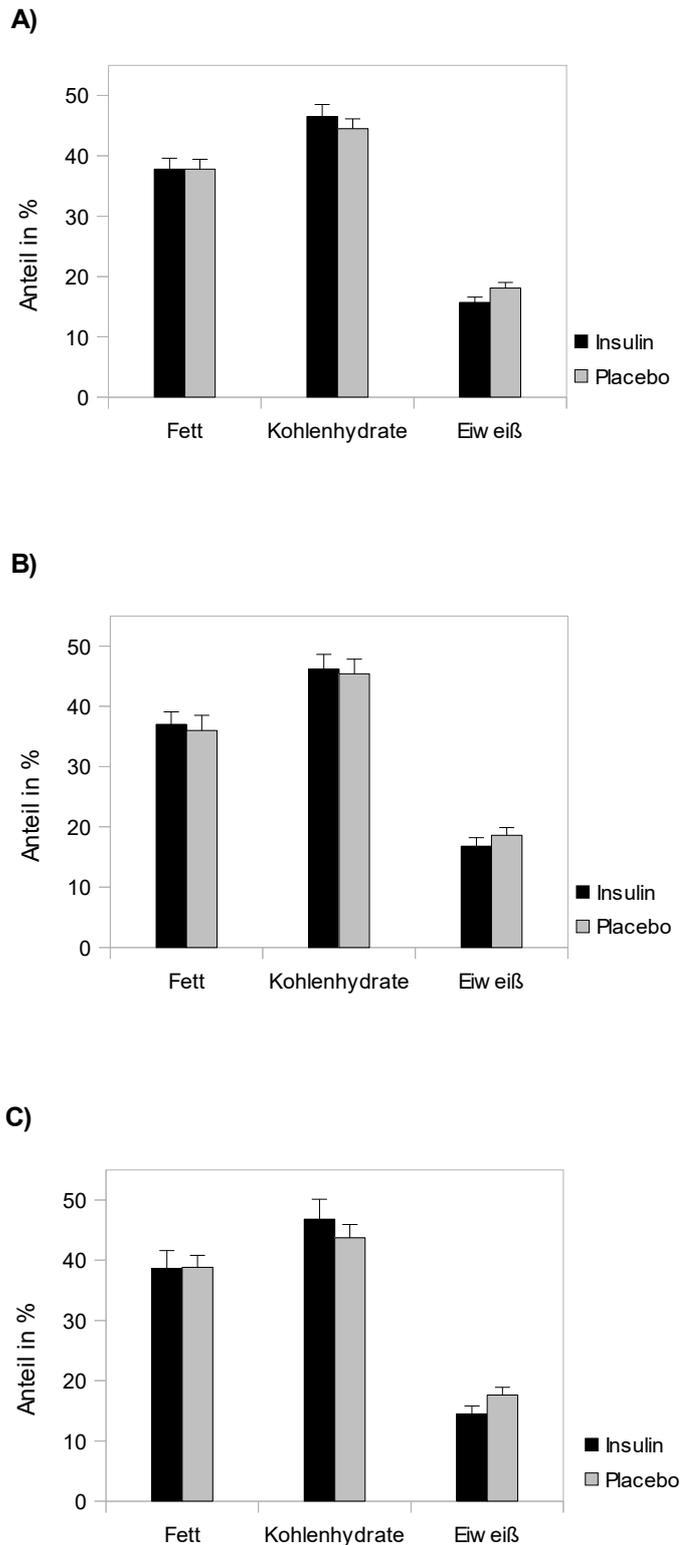


Abbildung 9. Prozentuale Nährstoffzusammensetzung eingeteilt in die drei Makronährstoffe: Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß an Tag 3 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

Betrachtet man die absoluten Werte der konsumierten Makronährstoffe in Gramm, so zeigte sich, dass es weder in der Gesamtgruppe (Fett: $U = 424.0$, $z = -0.789$, $p = 0.215$; Kohlenhydrate: $U = 462.0$, $z = -0.254$, $p = 0.400$) noch getrennt nach Männern (Fett: $U = 105.0$, $z = -0.593$, $p = 0.286$; Kohlenhydrate: $U = 108.0$, $z = -0.474$, $p = 0.327$) und Frauen (Fett: $U = 99.0$, $z = -0.830$, $p = 0.212$; Kohlenhydrate: $U = 99.0$, $z = -0.830$, $p = 0.212$) einen signifikanten Unterschied zwischen der Insulin- und Placebogruppe gab (vgl. Tabelle 8).

Tabelle 8.

Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) der absolut konsumierten Menge der drei Makronährstoffe Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß in Gramm (g) an Tag 3 in der Gruppe Insulin vs. Placebo für die Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen sowie p -Werte (Mann-Whitney U-Test) für die Intergruppenvergleiche der insulin- vs. placebobehandelten Probanden. Für die Gruppenvergleiche getrennt nach Männern und Frauen werden exakte p -Werte berichtet.

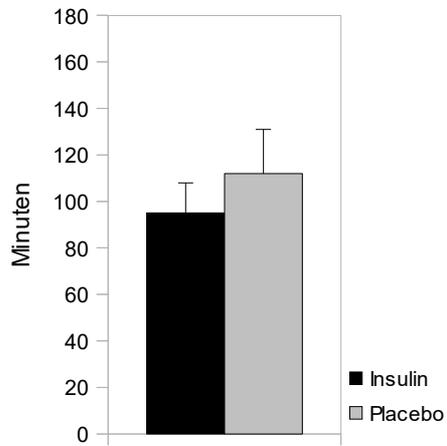
	Fett (g)	p -Wert (eins.)	Kohlenhydrate (g)	p -Wert (eins.)	Eiweiß (g)	p -Wert (zweis.)
Gesamtgruppe						
Insulin	94.12 \pm 7.65	0.215	254.33 \pm 25.55	0.400	88.15 \pm 8.66	0.642
Placebo	85.04 \pm 5.88		223.22 \pm 15.34		92.11 \pm 8.36	
Männer						
Insulin	107.95 \pm 13.3	0.286	271.97 \pm 35.49	0.327	109.08 \pm 14.38	0.984
Placebo	96.62 \pm 9.45		265.63 \pm 22.55		110.07 \pm 13.5	
Frauen						
Insulin	80.29 \pm 6.19	0.212	236.69 \pm 38.42	0.212	67.22 \pm 6.45	0.626
Placebo	73.47 \pm 5.98		180.82 \pm 14.98		74.15 \pm 7.99	

3.3 *Meal pattern* an Tag 1

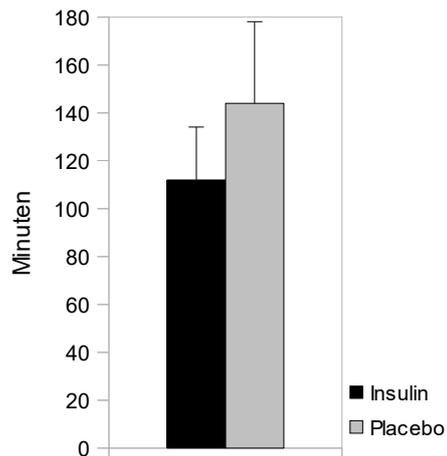
3.3.1 Zeitlicher Abstand zwischen der Testmahlzeit und der ersten Nahrungsaufnahme an Tag 1

Um die Hypothese zu überprüfen, dass die insulinbehandelten Probanden durch den nahrungsaufnahmereduzierenden Effekt von intranasalem Insulin, welches in der Laborsitzung verabreicht wurde, längere Zeit (im Vgl. zur Placebogruppe) keine Nahrung zu sich nehmen, wurde die Zeit zwischen der Testmahlzeit und der ersten darauf folgenden Nahrungsaufnahme gemessen. Für die Gesamtgruppe gilt, dass entgegen der Erwartung die insulinbehandelten Probanden bereits nach 95 ± 13 min wieder Nahrung zu sich nahmen und die Probanden der Placebogruppe nach 112 ± 19 min. Dieses Muster ging insbesondere auf die Gruppe der Männer zurück. So nahmen die männlichen Probanden der Insulingruppe 112 ± 22 min nach der Testmahlzeit wieder Nahrung zu sich und die der Placebogruppe nach 144 ± 34 min ($U = 111.0$, $z = -0.357$, $p = 1-0.37$). In der Gruppe der Frauen zeigte sich hingegen kein Unterschied zwischen den Substanzgruppen bei dem Vergleich des zeitlichen Abstandes zwischen der Testmahlzeit und der ersten darauf folgenden Mahlzeit (Ins: $M = 80 \pm 14$ min, Plac: $M = 81 \pm 16$ min, $U = 116.5$, $z = -0.441$, $p = 0.334$). Dabei werden erneut beim Vergleich der Insulins- vs. Placeboeffekte bei Männern bzw. Frauen exakte p -Werte berichtet. Abbildung 10 zeigt den Mittelwert und den Standardfehler des Zeitabstandes zwischen der Testmahlzeit und der ersten darauf folgenden Nahrungsaufnahme für die Gesamtgruppe (A) und getrennt für die männlichen (B) und weiblichen Probanden (C) in Abhängigkeit von der Substanz.

A)



B)



C)

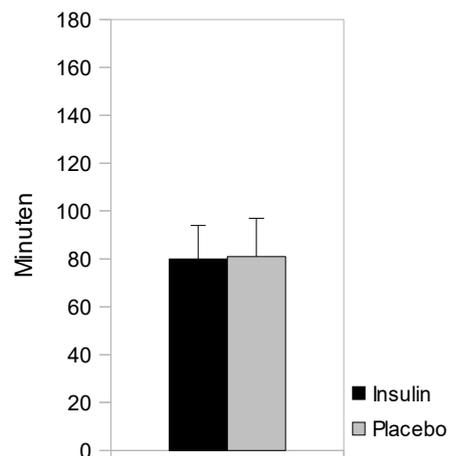


Abbildung 10. Zeitlicher Abstand in Minuten zwischen der Testmahlzeit im Labor und der ersten darauf folgenden Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen an Tag 1 in der Gruppe Insulin (schwarze Balken) und der Gruppe Placebo (graue Balken). Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

3.3.2 Zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme über den Tag 1

Um die Hypothese zu überprüfen, dass die Probanden der Insulingruppe nach der Laborsitzung im Vergleich zur Placebogruppe ihr Essverhalten durch die sättigende Wirkung von intranasalem Insulin dahingegen ändern, dass sie zeitlich versetzt später am Tag größere Mengen an Nahrung aufnehmen, wird die zeitliche Verteilung der berechneten Mittelwerte der prozentualen Anteile an der Gesamtkalorienmenge über den Tag 1 hinweg untersucht.

Um einen möglichen Substanzeffekt auf die zeitliche Verteilung der prozentualen Anteile der Nahrungsaufnahme über Tag 1 hinweg besser untersuchen zu können, wurde die Gesamtzeit in Zeiträume von Mittags (12:00 bis 14:59), Nachmittags (15:00 bis 17:59), früher Abend (18:00 bis 20:59) und später Abend (21:00 bis 23:59) eingeteilt und die hierin konsumierten Nahrungsmengen aufaddiert und als Prozentwert der Gesamtnahrungsmenge ausgedrückt.

Abbildung 11 zeigt die zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme an Tag 1 in den Tageszeiträumen Mittag, Nachmittag sowie früher und später Abend in den Gruppen Insulin (schwarze Balken) vs. Placebo (graue Balken) für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

Innerhalb der Gesamtgruppe zeigte sich in keinem der benannten Zeiträume ein signifikanter Unterschied zwischen der Insulin- und Placebogruppe bezüglich des aufgenommenen relativen Anteils an der Gesamtkalorienmenge. Mittags nahmen die Probanden der Insulingruppe im Mittel 31.3 ± 4.0 % und die Probanden der Placebogruppe 27.7 ± 3.3 % der Gesamtkalorienmenge zu sich ($U = 447.5$, $z = -0.667$, $p = 0.252$). Nachmittags lagen die prozentualen Anteile bei 16.5 ± 3.6 % (INS) vs. 18.8 ± 4.1 % (Plac) ($U = 473.5$, $z = -0.316$, $p = 0.376$) und am frühen Abend bei 30.9 ± 3.9 % (INS) vs. 31.0 ± 4.6 % (Plac) ($U = 486.5$, $z = -0.131$, $p = 0.448$). Am späten Abend nahmen die Probanden der Insulingruppe im Mittel 21.3 ± 4.1 % und die Probanden der Placebogruppe 22.6 ± 4.7 % der Gesamtkalorienmenge zu sich ($U = 495.0$, $z = -0.014$, $p = 0.495$).

Bei der getrennten Analyse nach Geschlechtern zeigte sich ebenfalls kein Hinweis auf Intergruppenunterschiede bzgl. der Verteilung der aufgenommenen prozentualen Anteile an der Gesamtkalorienmenge über den Tag 1 hinweg.

Zur weiteren Untersuchung wurde zusätzlich die Friedman-Rangvarianzanalyse als Verfahren für Intragruppenvergleiche durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass in der Gesamtgruppe unter Insulingabe ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den vier Messzeitpunkten auftrat, der dadurch zu Stande kam, dass die wesentliche Menge der Nahrung zwischen 12:00 und 14:59 bzw. 18:00 und 20:59 aufgenommen wurde ($Chi^2 =$

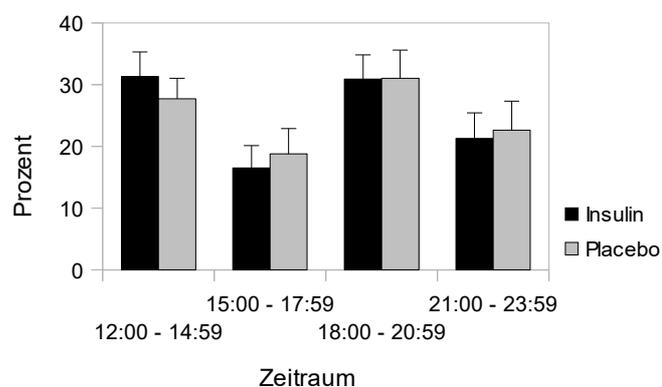
8.181, $p < 0.005$). Dieser Unterschied war auf die Gruppe der Frauen ($Chi^2 = 6.248$, $p < 0.020$) zurückzuführen, während der Unterschied in der zeitlichen Verteilung bei den Männern nicht signifikant war ($Chi^2 = 3.020$, $p < 0.100$). Auch unter Placebogabe zeigte sich in der Gesamtgruppe ein signifikanter Unterschied zwischen den vier Messzeitpunkten ($Chi^2 = 6.455$, $p < 0.020$), welcher sich auch bei der getrennten Analyse nach Männern ($Chi^2 = 3.874$, $p < 0.050$) und Frauen ($Chi^2 = 4.283$, $p < 0.050$) nachweisen ließ. Tabelle 9 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der Friedmann-Rangvarianzanalyse der vier Zeiträume für die Substanzbedingung Insulin vs. Placebo in der Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen.

Tabelle 9.

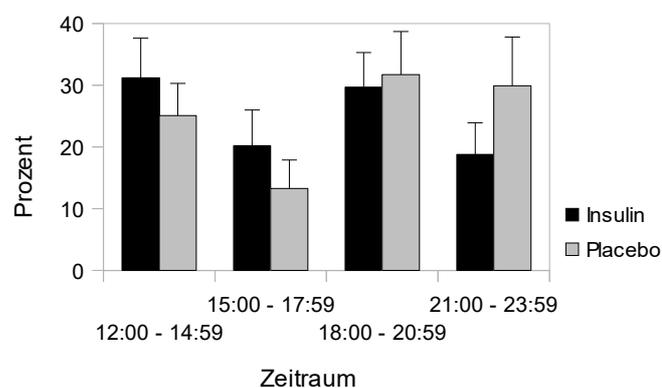
Ergebnisse (Chi^2 und p -Wert) der Friedman-Rangvarianzanalyse der vier Zeiträume (Mittags, Nachmittags, früher Abend sowie später Abend) für die Substanzbedingung Insulin bzw. Placebo in der Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen.

	Anteil an Gesamtkalorienaufnahme in %				Chi^2	p
	12:00 bis 14:59 Uhr	15:00 bis 17:59 Uhr	18:00 20:59 Uhr	21:00 23:59 Uhr		
Gesamtgruppe						
Insulin	31.3 ± 4.0	16.5 ± 3.6	30.9 ± 3.9	21.3 ± 4.1	8.181	< 0.005
Placebo	27.7 ± 3.3	18.8 ± 4.1	31.0 ± 4.6	22.6 ± 4.7	6.455	< 0.020
Männer						
Insulin	31.2 ± 6.4	20.2 ± 5.8	29.7 ± 5.6	18.8 ± 5.1	3.020	< 0.100
Placebo	25.1 ± 5.2	13.3 ± 4.6	31.7 ± 7.0	29.9 ± 7.9	3.874	< 0.050
Frauen						
Insulin	31.4 ± 5.1	13.0 ± 4.3	32.0 ± 5.7	23.6 ± 6.3	6.248	< 0.020
Placebo	30.3 ± 4.3	24.2 ± 6.8	30.2 ± 6.3	15.3 ± 4.5	4.283	< 0.050

A)



B)



C)

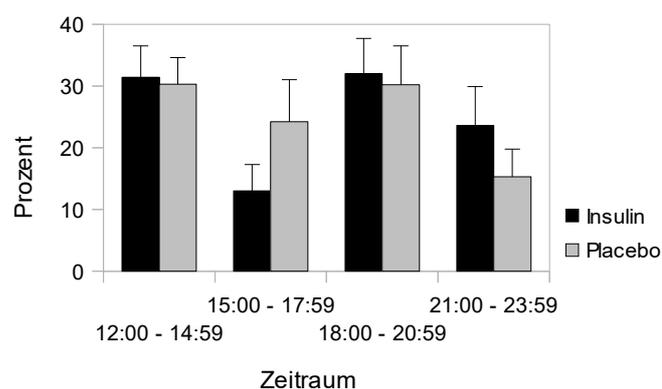


Abbildung 11. Zeitliche Verteilung der Nahrungsaufnahme an Tag 1 eingeteilt nach den Tageszeiträumen Mittag (12:00 – 14:59), Nachmittag (15:00 – 17:59), früher Abend (18:00 – 20:59) und später Abend (21:00 – 23:59) in den Gruppen Insulin (schwarze Balken) vs. Placebo (graue Balken). Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) der prozentualen Anteile an der Gesamtkalorienmenge für die Gesamtgruppe (A) und getrennt nach Männern (B) und Frauen (C).

3.4 Paarweise Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und den Hormonspiegeln Insulin, Leptin und Östrogen an Tag 1

Um substanzspezifische Zusammenhänge zwischen (a) der Gesamtkalorienmenge an Tag 1 sowie (b) den Hormonspiegeln von Insulin, Leptin und Östrogen im Blut zu untersuchen, wurden paarweise Rangkorrelationen nach Spearman für die genannten Variablen für die Insulin- und Placebobedingung in der Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen berechnet (vgl. Tabelle 11).

Wie unter 2.7.1 bereits dargestellt, wurde für die Berechnungen in Bezug auf die Hormonspiegel die kumulierte Differenz des jeweiligen Hormonwertes herangezogen (also die Summe der Veränderungen zur Baseline über insgesamt sechs Messzeitpunkte (MZP 2-7)). Wie in Tabelle 10 zusammengefasst (vgl. auch Blicke, 2009; Stockhorst et al. (to be submitted)) zeigte sich als Ergebnis der intranasalen Insulingabe ein im Vergleich zum Ausgangspunkt signifikanter Anstieg des peripheren Insulinspiegels, wohingegen es in der placebobehandelten Kontrollgruppe zu einer Abnahme kam ($U = 273.0$, $z = -3.066$, $p = 0.001$). Dieses Ergebnis zeigte sich auch in der Gruppe der Männer ($U = 44.5$, $z = -2.985$, $p = 0.001$). In der Gruppe der Frauen kam es hingegen sowohl unter Insulin- als auch Placebo-Gabe zu einem Anstieg des peripheren Insulinspiegels und damit zu keinem Gruppenunterschied ($U = 94.5$, $z = -1.263$, $p = 0.105$). Für die Hormone Leptin und Östrogen ergaben sich keine Unterschiede zwischen insulin- und placebobehandelten Probanden, weder in der Gesamtgruppe (Leptin: $U = 405.0$, $z = -1.251$, $p = 0.106$; Östrogen: $U = 488.0$, $z = -0.110$, $p = 0.456$) noch getrennt für Männer (Leptin: $U = 100.0$, $z = -0.791$, $p = 0.223$; Östrogen: $U = 102.0$, $z = -0.712$, $p = 0.248$) und Frauen (Leptin: $U = 106.0$, $z = -0.829$, $p = 0.212$; Östrogen: $U = 117.0$, $z = -0.415$, $p = 0.348$). Dabei nahmen die Leptinspiegel unter beiden Substanzbedingungen relativ zur Ausgangslage ab, während die Östrogenspiegel über die Zeit einen Anstieg aufwiesen.

Tabelle 10.

Mittelwerte (M) und Standardfehler ($\pm SEM$) der Baselinespiegel und kumulierte Differenz der Hormonspiegel Insulin (mE/l), Leptin (pg/ml) und Östrogen (pg/ml) während der Versuchssitzung in der Gruppe Insulin vs. Placebo und getrennt nach Männern und Frauen sowie Ergebnisse der Intergruppenvergleiche mittels Mann-Whitney U-Test (p -Wert, einseitig).

	Plasma-Insulin-Spiegel (mE/l)				
	Baselinespiegel		Kumulierte Differenz		p -Wert
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	
Gesamtgruppe	6.0 \pm 0.5	6.3 \pm 0.6	3.3 \pm 1.1	-1.3 \pm 1.0	0.001
Männer	5.9 \pm 0.8	5.6 \pm 0.6	2.1 \pm 1.5	-3.2 \pm 0.8	0.001
Frauen	6.1 \pm 0.6	6.9 \pm 1.1	4.5 \pm 1.7	0.5 \pm 1.9	0.105

	Plasma-Leptin-Spiegel (pg/ml)				
	Baselinespiegel		Kumulierte Differenz		p -Wert
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	
Gesamtgruppe	8.9 \pm 1.5	11.5 \pm 2.5	-1.2 \pm 1.0	-3.5 \pm 2.3	0.106
Männer	5.2 \pm 1.4	6.4 \pm 1.6	-0.6 \pm 1.0	-1.2 \pm 1.5	0.223
Frauen	12.4 \pm 2.3	16.6 \pm 4.4	-1.7 \pm 1.7	-5.8 \pm 4.3	0.212

	Plasma-Östrogen-Spiegel (pg/ml)				
	Baselinespiegel		Kumulierte Differenz		p -Wert
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	
Gesamtgruppe	56.6 \pm 7.5	44.2 \pm 6.0	3.2 \pm 7.3	0.8 \pm 4.6	0.456
Männer	31.6 \pm 2.3	30.5 \pm 3.2	3.0 \pm 5.8	-1.1 \pm 4.9	0.248
Frauen	80.1 \pm 11.8	57.9 \pm 10.8	3.5 \pm 13.4	2.8 \pm 7.8	0.348

Entgegen der Erwartung gab es bei beiden Substanzen keine signifikante Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge an Tag 1 und den Veränderungen der Konzentrationen der Plasmaspiegel der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen der insulin- vs. placebobehandelten Probanden. Der Unterschied in den Korrelationskoeffizienten der insulin- vs. placebobehandelten Probanden wurde für keine der Zusammenhänge zwischen den Plasma-Hormonspiegeln und der Gesamtkalorienmenge signifikant ($Chi^2 < 0.244$, $p > 0.500$), weder für die Gesamtgruppe noch getrennt nach Männern oder Frauen. Tabelle 11 gibt eine Übersicht über die Rangkorrelationskoeffizienten und die p -Werte zum Zusammenhang zwischen der Gesamtkalorienmenge und den Plasma-Hormonspiegeln

(erneut als Veränderung zur Baseline) sowie den Ergebnissen des *Chi*² Tests nach Krämer.

Tabelle 11.

Rangkorrelationen nach Spearman (in den Gruppen Insulin und Placebo) zwischen der Gesamtkalorienmenge (in kcal) und den kumulierten Veränderungen (als Differenz zur Baseline) der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen in der Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen an Tag 1 sowie Ergebnisse des *Chi*² Tests nach Krämer.

Korrelierte Variable	Gesamtgruppe		
	Insulin	Placebo	<i>Chi</i> ²
kcal x Insulin	<i>r</i> _s : 0.129 <i>p</i> : 0.490	<i>r</i> _s : -0.110 <i>p</i> : 0.550	0.849 <i>p</i> : 0.357
kcal x Leptin	<i>r</i> _s : 0.016 <i>p</i> : 0.934	<i>r</i> _s : -0.004 <i>p</i> : 0.980	0.006 <i>p</i> : 0.938
kcal x Östrogen	<i>r</i> _s : 0.045 <i>p</i> : 0.812	<i>r</i> _s : -0.025 <i>p</i> : 0.892	0.072 <i>p</i> : 0.788

Korrelierte Variable	Männer			Frauen		
	Insulin	Placebo	<i>Chi</i> ²	Insulin	Placebo	<i>Chi</i> ²
kcal x Insulin	<i>r</i> _s : 0.229 <i>p</i> : 0.412	<i>r</i> _s : -0.065 <i>p</i> : 0.812	0.597 <i>p</i> : 0.440	<i>r</i> _s : 0.176 <i>p</i> : 0.514	<i>r</i> _s : -0.009 <i>p</i> : 0.974	0.244 <i>p</i> : 0.621
kcal x Leptin	<i>r</i> _s : 0.168 <i>p</i> : 0.550	<i>r</i> _s : -0.026 <i>p</i> : 0.922	0.257 <i>p</i> : 0.612	<i>r</i> _s : -0.185 <i>p</i> : 0.492	<i>r</i> _s : -0.074 <i>p</i> : 0.786	0.089 <i>p</i> : 0.766
kcal x Östrogen	<i>r</i> _s : 0.016 <i>p</i> : 0.954	<i>r</i> _s : 0.040 <i>p</i> : 0.884	0.004 <i>p</i> : 0.950	<i>r</i> _s : 0.015 <i>p</i> : 0.956	<i>r</i> _s : -0.232 <i>p</i> : 0.386	0.441 <i>p</i> : 0.507

Anmerkung. *r*_s: Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman, *p*: Wahrscheinlichkeit

3.5 Paarweise Korrelation zwischen dem prozentalem Fett- und Kohlenhydratkonsum und den Hormonen Insulin, Leptin und Östrogen an Tag 1

Um korrelative Zusammenhänge auch zwischen (a) den prozentualen Nährstoffanteilen von Fett und Kohlenhydraten an Tag 1 und (b) den kumulierten Differenzen der Plasmaspiegel der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen im Blut zu untersuchen, wurden paarweise Rangkorrelationen nach Spearman für die Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen für beide Versuchsbedingungen (Insulin vs. Placebo) berechnet.

Relativer Fettanteil

Tabelle 12A gibt eine Übersicht über die Rangkorrelationskoeffizienten und die p -Werte zum Zusammenhang zwischen dem prozentualen Fettkonsum und den Plasma-Hormonspiegeln (erneut als Veränderung zur Baseline) sowie den Ergebnissen des Chi^2 Tests nach Krämer.

In der Gesamtgruppe zeigte sich unter der Gabe von intranasalem Insulin eine signifikant positive Korrelation zwischen dem prozentualen Fettkonsum und der Veränderung des Plasma-Leptin-Spiegels ($r_s = 0.372$, $p = 0.040$, zweiseitig). In der Kontrollgruppe zeigte sich hingegen nach der Gabe von intranasalem Placebo eine signifikant negative Korrelation zwischen dem prozentualen Fettkonsum und dem Plasma-Leptin-Spiegel ($r_s = -0.378$, $p = 0.032$, zweiseitig). D. h. Probanden, deren Leptinspiegel unter intranasaler Insulingabe stärker abnahm, zeigten nachfolgend einen geringeren Fettkonsum (und umgekehrt). Für die placebobehandelte Kontrollgruppe gilt hingegen, je niedriger der unter intranasaler Placebogabe sinkende Plasma-Leptin-Spiegel war, desto höher war der nachfolgende Fettkonsum. Insgesamt ergab sich dabei ein hochsignifikanter Unterschied der Rangkorrelationskoeffizienten zwischen der insulin- und placebobehandelten Gruppe ($Chi^2 = 8.939$; $p = 0.003$).

Bei der getrennten Analyse nach den Geschlechtern zeigte sich, dass dieses Ergebnis v. a. auf die Gruppe der Frauen zurückzuführen war. Denn während es in der Gruppe der Männer für keinen der untersuchten Plasmaspiegel der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen eine signifikante Korrelation mit dem prozentualen Fettkonsum (weder unter Insulin- noch Placebogabe) gab, zeigte sich in der Gruppe der Frauen unter der Gabe von intranasalem Insulin – ebenso wie in der Gesamtgruppe – eine signifikant positive Korrelation zwischen dem prozentualen Fettkonsum und dem Plasma-Leptin-Spiegel in der oben beschriebenen Weise ($r_s = 0.497$, $p = 0.05$, zweiseitig). D. h. ein niedriger Plasma-Leptin-Spiegel ging mit einem geringeren prozentualen Fettkonsum einher. Unter Placebogabe zeigte sich hingegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen Variablen. Der Unterschied zwischen den Rangkorrelationskoeffizienten der Versuchsgruppen (Insulin und Placebo) erreicht dabei das Signifikanzniveau ($Chi^2 = 4.626$, $p = 0.032$).

Darüber hinaus zeigte sich in der Gruppe der Frauen unter intranasaler Insulingabe eine signifikant negative Korrelation zwischen dem prozentualen Fettkonsum und dem Plasma-Insulin-Spiegel ($r_s = -0.565$, $p = 0.022$, zweiseitig). D. h. Frauen, deren Plasma-Insulin-Spiegel unter intranasaler Insulingabe zunahm, zeigten nachfolgend einen geringeren Fettkonsum. Während sich unter Placebogabe kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem prozentualen Fettkonsum und dem Plasma-Insulin-Spiegel finden ließ. Der Unterschied der Rangkorrelationskoeffizienten zwischen der insulin- und placebobehandelten Gruppe verpasste dabei das Signifikanzniveau ($Chi^2 = 1.775$; $p = 0.183$).

Tabelle 12A.

Rangkorrelationen nach Spearman (in den Gruppen Insulin und Placebo) zwischen dem prozentualen Fettkonsum und den kumulierten Veränderungen (als Differenz zur Baseline) der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen in der Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen an Tag 1 sowie Ergebnisse des Chi^2 Tests nach Krämer.

Korrelierte Variable	Gesamtgruppe					
	Insulin	Placebo	Chi^2			
% Fett x Plasma-Insulin	r_s : -0.367 p : 0.420	r_s : -0.066 p : 0.720	1.495 p : 0.221			
% Fett x Plasma-Leptin	r_s : 0.372 p : 0.040	r_s : -0.378 p : 0.032	8.939 p : 0.003			
% Fett x Plasma-Östrogen	r_s : 0.169 p : 0.362	r_s : -0.003 p : 0.988	0.444 p : 0.505			

Korrelierte Variable	Männer			Frauen		
	Insulin	Placebo	Chi^2	Insulin	Placebo	Chi^2
% Fett x Plasma-Insulin	r_s : -0.064 p : 0.820	r_s : 0.026 p : 0.922	0.055 p : 0.815	r_s : -0.565 p : 0.022	r_s : -0.135 p : 0.618	1.775 p : 0.183
% Fett x Plasma-Leptin	r_s : 0.105 p : 0.708	r_s : -0.432 p : 0.094	2.149 p : 0.143	r_s : 0.497 p : 0.05	r_s : -0.271 p : 0.310	4.626 p : 0.032
% Fett x Plasma-Östrogen	r_s : -0.031 p : 0.912	r_s : 0.172 p : 0.524	0.282 p : 0.595	r_s : 0.253 p : 0.344	r_s : -0.112 p : 0.680	0.959 p : 0.327

Anmerkung. r_s : Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman, p : Wahrscheinlichkeit zweiseitig

Relativer Kohlenhydratanteil

In Tabelle 12B werden entsprechend die Rangkorrelationskoeffizienten und die p -Werte für den prozentualen Kohlenhydratkonsum korreliert mit den Hormonspiegeln (erneut als Veränderung zur Baseline) dargestellt.

In der Gesamtgruppe zeigte sich unter intranasaler Insulingabe eine signifikant positive Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenhydratkonsum und kumulierten Veränderungen des Plasma-Insulin-Spiegels ($r_s = 0.375$, $p = 0.038$, zweiseitig), während sich in der Kontrollgruppe kein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen beiden Variablen aufzeigen ließ. Für die Gesamtgruppe ergab sich unter intranasalem Insulin also folgender Zusammenhang: je stärker der Plasma-Insulin-Spiegel unter intranasaler Insulingabe anstieg, desto höher war der nachfolgende prozentuale Kohlenhydratkonsum an der Gesamtkalorienmenge. Der Unterschied zwischen den Rangkorrelationskoeffizienten für die Versuchsbedingungen (Insulin und Placebo) war dabei nicht signifikant ($Chi^2 = 2.516$, $p =$

0.113).

Darüber hinaus ließ sich in der Gesamtgruppe unter intranasalem Insulin eine signifikant negative Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenhydratkonsum und dem Plasma-Leptin-Spiegel nachweisen ($r_s = -0.427$, $p = 0.016$, zweiseitig). D. h. Probanden, deren Plasma-Leptin-Spiegel unter intranasaler Insulingabe stärker abnahm, zeigten nachfolgend einen höheren prozentualen Kohlenhydratkonsum an der Gesamtkalorienmenge. Wohingegen in der Kontrollgruppe unter Placebogabe ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen diesen Parametern zu beobachten war ($r_s = 0.425$, $p = 0.016$, zweiseitig). D. h. je stärker der Plasma-Leptin-Spiegel unter intranasaler Placebogabe abnahm, desto niedriger war der nachfolgende Kohlenhydratkonsum. Insgesamt ergab sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen den Rangkorrelationskoeffizienten der insulin- vs. placebobehandelten Gruppen ($Chi^2 = 12.015$, $p = 0.001$).

Bei der getrennten Analyse nach den Geschlechtern zeigte sich in der Gruppe der Männer, dass – entgegen der Erwartung – bei beiden Substanzen (Insulin vs. Placebo) keine signifikante Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenhydratkonsum und den Plasmaspiegeln der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen (jeweils bezogen auf die kumulierte Differenz) bestand.

In der Gruppe der Frauen zeigte sich hingegen eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Kohlenhydratanteil und dem Plasma-Insulin-Spiegel unter Insulingabe ($r_s = 0.644$, $p = 0.008$, zweiseitig). D. h. Frauen, deren Plasma-Insulin-Spiegel unter intranasaler Insulingabe zunahm zeigten nachfolgend einen höheren Kohlenhydratkonsum. Der Unterschied zwischen den Rangkorrelationskoeffizienten der Versuchsgruppen (Insulin vs. Placebo) verfehlte allerdings die statistische Signifikanz ($Chi^2 = 2.454$, $p = 0.117$).

Tabelle 12B.

Rangkorrelationen nach Spearman (in den Gruppen Insulin und Placebo) zwischen dem prozentualen Kohlenhydratkonsum und den kumulierten Veränderungen (als Differenz zur Baseline) der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen in der Gesamtgruppe und getrennt nach Männern und Frauen an Tag 1 sowie Ergebnisse des Chi^2 Tests nach Krämer.

Korrelierte Variable	Gesamtgruppe		
	Insulin	Placebo	Chi^2
% Kohlenhydrate x Plasma-Insulin	r_s : 0.375 p : 0.038	r_s : -0.020 p : 0.912	2.516 p : 0.113
% Kohlenhydrate x Plasma-Leptin	r_s : -0.427 p : 0.016	r_s : 0.425 p : 0.016	12.015 p : 0.001
% Kohlenhydrate x Plasma-Östrogen	r_s : -0.081 p : 0.666	r_s : -0.007 p : 0.970	0.081 p : 0.776

Korrelierte Variable	Männer			Frauen		
	Insulin	Placebo	Chi^2	Insulin	Placebo	Chi^2
% Kohlenhydrate x Plasma-Insulin	r_s : 0.036 p : 0.900	r_s : -0.286 p : 0.284	0.732 p : 0.392	r_s : 0.644 p : 0.008	r_s : 0.171 p : 0.528	2.454 p : 0.117
% Kohlenhydrate x Plasma-Leptin	r_s : -0.425 p : 0.114	r_s : 0.478 p : 0.600	6.161 p : 0.013	r_s : -0.412 p : 0.114	r_s : 0.365 p : 0.164	4.588 p : 0.032
% Kohlenhydrate x Plasma-Östrogen	r_s : 0.066 p : 0.814	r_s : -0.267 p : 0.318	0.775 p : 0.379	r_s : -0.153 p : 0.572	r_s : 0.171 p : 0.528	0.745 p : 0.388

Anmerkung. r_s : Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman, p : Wahrscheinlichkeit, zweiseitig

4. Diskussion und Schlussfolgerungen

4.1 Stellungnahme zu den Hypothesen

Im Folgenden werden die Ergebnisse dieser Arbeit unter Berücksichtigung der Hypothesen und der Befunde anderer Studien diskutiert. Dabei wird die bekannte Gliederung der Fragestellung und der Ergebnisdarstellung beibehalten, indem die Befunde in folgender Abfolge diskutiert werden:

- ♦ Gesamtkalorienmenge
- ♦ Prozentuale Nährstoffzusammensetzung, eingeteilt in die drei Makronährstoffe Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß
- ♦ *Meal pattern* (Tag 1), d. h. Merkmale der zeitlichen Struktur der Nahrungsaufnahme
- ♦ Paarweise Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und den – unter Laborbedingungen unter der experimentellen Gabe von intranasalem Insulin vs. Placebo gemessenen – Spiegeln der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen
- ♦ Paarweise Korrelation zwischen den prozentualen Nährstoffanteilen von Fett bzw. Kohlenhydrate und den Spiegeln der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen (zu Messbedingungen siehe oben).

Es ist bekannt, dass intranasales Insulin kurzfristig die Nahrungsaufnahme regulieren kann (vgl. 1.3.1). Es liegen neben Tierexperimenten auch eine Reihe von Humanstudien vor, die diesen Effekt für männliche Probanden belegen. So konsumierten Männer nach der einmaligen Gabe von 160 IU intranasalem Insulin in einer anschließenden, standardisierten Testmahlzeit im Rahmen einer Laborsitzung signifikant weniger Gesamtkalorien als die Kontrollgruppe, wohingegen in der Gruppe der Frauen kein signifikanter Unterschied zwischen den Substanzbedingungen nachgewiesen werden konnte (Benedict et al, 2008). Jauch-Chara, Friedrich, Rezmer, Melchert, Scholand-Engler, Hallschmid und Oltmanns (2012) konnten vergleichbare Ergebnisse erzielen, indem sie den Probanden nach der Gabe von intranasalem Insulin ein Test-Buffer anboten, bei dem die Probanden die Nahrung frei wählen durften. Auch im Rahmen des hier vorliegenden Gesamtprojekts konnte Blicke (2009) die geringere Kalorienaufnahme in einer standardisierten Testmahlzeit nach intranasaler Insulingabe (statt Placebo) bei männlichen, nicht bei weiblichen, Probanden nachweisen (vgl. auch Tabelle 5, S. 49).

Diese Studien sind allerdings dahingehend in ihrer Aussagekraft limitiert, als dass der Versuchsaufbau immer nach akuter Insulin- bzw. Placebogabe im direkten Anschluss eine Messung des Essverhaltens im Laborkontext beinhaltet.

Ziel der vorliegenden Arbeit, die sich dabei an tierexperimentellen Studien orientierte und in ein größeres DFG-Projekt eingegliedert war, war es nun, das Essverhalten von Probanden und Probandinnen, denen unter standardisierten Laborbedingungen randomisiert intranasales Insulin oder Placebo verabreicht worden war und die die schon genannte Testmahlzeit im Labor konsumiert hatten, auch unter natürlichen Bedingungen, d. h. unter dem regulären Nahrungsangebot ihrer eigenen Umgebung, im Anschluss an die Laborbedingungen zu untersuchen. Somit fokussiert die Auswertung das natürliche Essverhalten im direkten Anschluss an die experimentelle Intervention mit Gabe von intranasalem Insulin vs. Placebo (Tag 1).

Für die Untersuchung der Gesamtkalorienmenge und deren prozentualer Nährstoffzusammensetzung wurden neben dem Versuchstag 1, welcher im Anschluss an die Intervention begann, auch der nachfolgende Tag 2 ausgewertet, um mögliche langfristige Veränderungen des Essverhaltens zu erfassen; ebenso wurde der Tag 3 als eine Art Referenztag erhoben.

Bisher liegen keine Humanstudien vor, welche die Auswirkung von intranasal verabreichtem, zentral wirksamem Insulin sowohl auf die Gesamtkalorienaufnahme als auch auf die Wahl der Makronährstoffe unter natürlichen Bedingungen untersuchen. Es interessiert daher neben der Gesamtkalorienaufnahme auch die prozentuale Verteilung der Gesamtkalorienaufnahme auf die Nährstoffklassen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß.

Gesamtkalorienmenge unter natürlichen Bedingungen

Entgegen der Hypothese hatte die vorangehende Behandlung mit intranasalem Insulin im Vergleich zu Placebo an Versuchstag 1 weder in der Gesamtgruppe noch in der Gruppe der Männer einen signifikanten Effekt auf die Gesamtkalorienaufnahme unter natürlichen Bedingungen. Zwar nahmen die männlichen Probanden unter Insulingabe im Mittel weniger Kalorien zu sich als die Kontrollgruppe, dieser Unterschied verfehlte jedoch das Signifikanzniveau deutlich. Ebenso ließ sich auch an Tag 2, welcher ausgewertet wurde, um mögliche langfristige Veränderungen des natürlichen Essverhaltens nach intranasaler Insulingabe nachzuweisen und dem als Referenztag dienenden Tag 3 kein signifikanter Unterschied in der Gesamtkalorienaufnahme zwischen den Substanzgruppen (Insulin vs. Placebo) nachweisen.

Damit ließ sich der akute, nahrungsaufnahmereduzierende Effekt von intranasalem Insulin bei Männern unter natürlichen Bedingungen nicht nachweisen und erwartungsgemäß auch bei Frauen nicht auffinden.

Prozentuale Nährstoffzusammensetzung unter natürlichen Bedingungen eingeteilt in die drei Makronährstoffe Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß

Neben der Gesamtkalorienmenge, ist aber auch die Qualität der Nahrungszusammensetzung aus den Makronährstoffen von entscheidender Bedeutung. Im Hinblick auf die Relevanz einer Veränderung der Nahrungszusammensetzung sind z. B. Daten von Miller, Lindemann, Wallace und Niederpruem (1990) von Interesse, die in ihrer Studie zum Essverhalten belegen, dass für eine Gewichtsreduktion weniger die Höhe der konsumierten Gesamtkalorienmenge, als vielmehr deren prozentuale Zusammensetzung aus den Makronährstoffen entscheidend ist. Auf diesem Hintergrund wurde in der vorliegenden Studie zusätzlich zur Gesamtkalorienmenge deren prozentuale Zusammensetzung aus den drei Makronährstoffen Fett, Kohlenhydrate und Eiweiß untersucht. Motiviert wurde die Untersuchung dieser Fragestellung auch durch Befunde, wonach die Art der Nährstoffzufuhr (hoch fetthaltig vs. gering fetthaltig) den Transport von Insulin in das ZNS und die Wirkung von Insulin im ZNS modifiziert und dabei eine stark fetthaltige Ernährung den Transport von Insulin in das ZNS reduziert (z. B. Kayala et al., 2000, siehe auch 4.3).

Übersicht:

Die Hypothese, dass zentral wirksames intranasales Insulin zu einem geringeren prozentualen Fettkonsum führt, konnte in der vorliegenden Studie belegt werden. So war im direkten Anschluss an die experimentelle Gabe der intranasalen Substanzen, also an Tag 1, sowohl in der Gesamtgruppe, als auch bei der getrennten Analyse nach Männern und Frauen, der relative Anteil fetthaltiger Nahrung an der Gesamtkalorienaufnahme nach intranasaler Insulingabe im Vergleich zur Placebogabe geringer. Dieser prozentual geringere Fettkonsum ging dabei mit einem prozentual höheren Kohlenhydratkonsum einher. Insulinbehandelte Probanden konsumierten also (an Tag 1) relativ mehr Kohlenhydrate als placebobehandelte Probanden. Dabei erreichte der für die Gesamtgruppe signifikante Effekt – bei getrennter Analyse für Männer und Frauen unter Berücksichtigung der α -Adjustierung – nur in der Gruppe der weiblichen Probanden das Signifikanzniveau. Wichtig ist es, an dieser Stelle hervorzuheben, dass auch der relative Proteingehalt der Nahrung erfasst wurde, sodass eine Veränderung im relativen Fettgehalt nicht notwendigerweise mit einer Veränderung des relativen Kohlenhydratanteils einhergehen musste. Hier wurden keine Gruppenunterschiede beobachtet. An Tag 2 zeigte sich dieser Effekt von intranasalem Insulin (im Vergleich zu Placebo) auf die Nährstoffzusammensetzung nur noch bei den männlichen Probanden, erneut im Sinne einer signifikant geringeren relativen Aufnahme an Fett und einem tendenziell höheren Anteil von Kohlenhydraten infolge intranasaler Insulins. Frauen

wiesen nun ein zu Tag 1 umgekehrtes Muster mit einem höheren Anteil an Fett und einem geringeren Anteil an Kohlenhydraten auf. An Tag 3 zeigten sich keine Gruppenunterschiede.

Prozentualer Fettkonsum:

Die speziell fettkonsumreduzierenden Effekte von Insulin, die hier abschnittsweise und zum Teil auch geschlechtsspezifisch (an Tag 2 nur in der Gruppe der Männer) nachgewiesen wurden, sind vergleichbar mit den unter 1.4.2 bereits dargestellten tierexperimentellen Ergebnissen von Van Dijk et al. (1997). Die Arbeitsgruppe zeigte, dass Insulininfusionen in den Nucleus arcuatus von männlichen Ratten nach einem Zeitraum von 21-Stunden im Vergleich zur Placebogabe zu einem signifikant niedrigeren Fettkonsum bei unveränderter Gesamtkalorienmenge führten, wobei die Kohlenhydrataufnahme in diesem Experiment nicht-signifikant erhöht war. Eine mögliche Ursache für diesen geringeren Fettkonsum unter zentraler Insulingabe sehen Van Dijk und Kollegen in der modulierenden Wirkung von Insulin auf das Transmittersystem des Hypothalamus, insbesondere Galanin. So befinden sich im Nucleus paraventricularis (PVN) des Hypothalamus (vgl. 1.3.1), eine Reihe von Neuropeptiden, welche durch zentrales Insulin beeinflusst werden. Zu diesen Neuropeptiden gehört u. a. Galanin, dessen Spiegel im PVN linear mit der Höhe des Fettkonsums (in kcal) ansteigt, d. h. positiv hiermit korreliert ist. So konnte in Tierexperimenten mit männlichen Ratten nachgewiesen werden, dass eine einzige Galanin-Injektion in den PVN die Fettaufnahme über einen Zeitraum von 24 Stunden steigert (Akabayashi, Koenig, Watanabe, Alexander & Leibowitz, 1994; Leibowitz, 1992). Van Dijk et al. (1997) vermuten, dass zentrales Insulin in Neuronen, welche zum PVN projizieren, die Galaninsynthese vermindert und, dass die dadurch verminderte Menge an Galanin zu einem verminderten Fettkonsum führt. Somit könnte in unserer Studie die Gabe von intranasalem Insulin in der Laborsitzung auch die Synthese von Galanin beeinflusst und so den relativen Fettkonsum unter natürlichen Bedingungen vermindert haben. Dabei weisen unsere Daten zudem darauf hin, dass dieses Ergebnis akut im Anschluss an die Gabe intranasalen Insulins sowohl bei Männern als auch bei Frauen nachweisbar ist (Tag 1) und in der Gruppe der Männer auch länger als 24 h (Tag 2) anhält.

Neben dem fettkonsumreduzierenden Effekt von zentralem Insulin gibt es umgekehrt auch – erneut auf dem Hintergrund tierexperimenteller Daten – Belege dafür, dass erhöhter Fettkonsum die Sensitivität für Insulinwirkungen im ZNS reduziert (Kayala et al., 2000). Während in der vorliegenden Arbeit die Effekte im relativen Nährstoffanteil zwar nur als abhängige Variable dienten, passen unsere Befunde gut zu Resultaten der tierexperimentellen Studie von Chavez et al. (1996), die die Interaktion zwischen intranasalem Insulin (ja/nein) und dem Fettanteil der Diät auf das Essverhalten von Ratten

untersuchten: Ratten erhielten eine von vier Diäten, deren Fettanteil zwischen 7 und 54% bei gleichbleibender Gesamtkalorienmenge variierte. Nach einer sechstägigen intraventrikulären Infusion von Insulin bzw. Placebo wurde das Essverhalten der Ratten untersucht. Hierbei zeigte sich, dass die Ratten, deren Futter einen Fettanteil von 7 bzw. 22% Fett hatte, unter Insulin signifikant weniger Kalorien aufnahmen und ihr Körpergewicht reduzierten im Vergleich zur Placebogruppe. Bei den Gruppen mit einem Fettanteil von 39 bzw. 54% an der Gesamtkalorienmenge hatte die Insulingabe im Vergleich zu Placebo hingegen keinen kalorienaufnahme-reduzierenden Effekt mehr. Die Autoren schlossen hieraus, dass der durch die erhöhte Fettaufnahme gesteigerte Fettsäureabbau, auch als β -Oxidation bezeichnet, zu einer verminderten Insulin-Sensitivität des ZNS führt.

Wie unter 1.3.3 bereits dargestellt, scheinen der zentrale Insulin-Spiegel sowie der Fettstoffwechsel also in Wechselbeziehung zueinander zu stehen, wobei sie sich gegenseitig beeinflussen können. So zeigen die Daten von Iwen und Kollegen (2014, vgl. 1.3.3), dass die Gabe von intranasalem Insulin bei gesunden männlichen und weiblichen Probanden im Vergleich zur Placebogruppe zu einer Hemmung der Lipolyse führt. Tierexperimentelle Daten weisen im Einklang mit diesen Befunden darauf hin, dass das Fehlen des zentralen Insulin-Rezeptors bei Mäusen zu einer hemmungslosen Lipolyse und einer verminderten Lipogenese im weißen Fettgewebe führt (Scherer et al., 2013). Neben der Hemmung der Lipolyse konnten Gancheva und Kollegen (2015) belegen, dass zentrales Insulin bei Stoffwechselgesunden in der Leber die Fetteinlagerung in Form von HCL senkt. Bei den untersuchten übergewichtigen Typ 2 Diabetikern konnte dieser Effekt hingegen nicht beobachtet werden. Die Ursache für diese fehlende Wirkung von intranasalem Insulin könnte eine mit dem Übergewicht assoziierte zentrale Insulin-Resistenz sein (Hallschmid et al., 2008; vgl. auch 1.6).

In der von uns durchgeführten Studie zeigt sich der relativ geringere Fettkonsum nach intranasalem Insulin am Tag der Substanzgabe (Tag 1) bei Männern (richtungsmäßig) und Frauen (signifikant). Am Folgetag 2 wurde der Effekt allerdings nur noch bei Männern beobachtet. Eine mögliche Erklärung für diesen geschlechtsspezifischen Effekt könnte in weiblichen Geschlechtshormonen, insbesondere 17β -Östradiol, begründet sein. So wiesen Ponchon, Lause und Maiter (2000) an Ratten *in vitro* nach, dass 17β -Östradiol die mRNA-Expression von Galanin in einer dosisabhängigen Weise steigert. Dies deckt sich mit der Darstellung von Leibowitz (1992), wonach der erhöhte Östrogenspiegel bei übergewichtigen Frauen zu einer gesteigerten Galanin-Synthese und damit zu einem gesteigerten Fettkonsum und Gewichtszunahme führt. Ein erhöhter 17β -Östradiolspiegel könnte also bei Frauen für eine gesteigerte Galanin-Expression und somit für einen erhöhten Fettkonsum verantwortlich sein. Warum dieser Effekt erst an Tag 2 zum Tragen kommt, ist noch unklar.

Die Probanden unserer Studie waren freizyklierend. Um mögliche Wechselwirkungen zwischen dem peripheren Östrogenspiegel und zentralem Insulin zu untersuchen, sollten zukünftig auch Frauen, welche orale Kontrazeptiva einnehmen, untersucht werden (vgl. auch 4.3.1).

Prozentualer Kohlenhydratkonsum:

Auch die unter Insulingabe bei Männern und Frauen an Tag 1 tendenziell höhere Kohlenhydrataufnahme kann möglicherweise auf eine modulierende Wirkung von zentralem Insulin auf das Transmittersystem des Hypothalamus zurückgeführt werden. Wie bereits unter 1.3.2 dargestellt, hemmt zentrales Insulin die Wiederaufnahme von Noradrenalin (NA) aus dem synaptischen Spalt und führt somit zu einer Erhöhung dieses Neurotransmitterspiegels. Hohe NA-Spiegel sind wiederum assoziiert mit einer erhöhten Aufnahme von Kohlenhydraten (Leibowitz, 1992). Dieser Effekt ist vermutlich geschlechtsunabhängig, da NA zu den klassischen Neurotransmittern gehört.

Trotzdem zeigte sich in der Gruppe der Frauen an Tag 2 unter Insulingabe im Vergleich zur Placebogruppe ein relativ geringerer Kohlenhydratkonsum. Die Ursache hierfür könnte in der hemmenden Wirkung von zentralem Insulin auf die Synthese von NPY im PVN (vgl. 1.3.1) begründet sein, denn hohe Spiegel von NPY sind ebenfalls assoziiert mit einer erhöhten Aufnahme von Kohlenhydraten (Leibowitz, 1992; Van Dijk et al., 1997), sodass die Synthesehemmung durch zentrales Insulin zu einer Abnahme des Kohlenhydratkonsums führt. Unklar ist jedoch, warum dieser Effekt nur in der Gruppe der Frauen und nur an Tag 2 auftreten soll.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass zentrales Insulin, operationalisiert über die Gabe intranasal verabreichten Insulins (im Vergleich zu intranasal verabreichtem Placebo), bei beiden Geschlechtern an Tag 1 zu einem geringeren Fett- und einem höheren prozentualen Kohlenhydratkonsum führte. In der Gruppe der Männer war dieser Effekt von zentralem Insulin auf die Makronährstoffzusammensetzung auch an Tag 2 nachweisbar. Warum es in der Gruppe der Frauen an Tag 2 hingegen zu einem gegensätzlichen Muster kam, bleibt unklar. Eventuell hat Östradiol hierbei eine Wirkung, wobei bei dieser Erklärung unklar bleibt, warum zentrales Insulin an Tag 1 bei beiden Geschlechtern die gleiche Wirkung hatte und an Tag 2 nicht. Insgesamt ist festzuhalten, dass eine Auswirkung der Gabe intranasalen Insulins auf den relativen Fettkonsum beim Menschen von besonderem Interesse auch im Hinblick auf mögliche therapeutische Effekte von intranasalem Insulin zur Behandlung oder eher noch zur Prävention von Übergewicht ist.

Meal pattern

Die Hypothese, dass die Probanden unter Insulingabe an Tag 1 – durch den nahrungsaufnahmereduzierenden Effekt von Insulin – im Vergleich zu Placebo mit größerer zeitlicher Verzögerung und damit erst später am Tag Nahrung zu sich nehmen, konnte nicht bestätigt werden. So gab es weder in der Gesamtgruppe, noch in der Gruppe der Männer oder Frauen, einen signifikanten Unterschied im zeitlichen Abstand zwischen Ende der Testmahlzeit im Labor und der ersten Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen außerhalb des Labors. Entgegen der Hypothese zeigte sich, dass die männlichen Probanden – richtungsmäßig – unter Insulingabe im Mittel früher wieder Nahrung zu sich nahmen, als die placebobehandelten männlichen Kontrollprobanden. Dieses Ergebnis erreichte allerdings keine statistische Signifikanz. Die Ursache hierfür könnte in der niedrigeren Kalorienaufnahme der insulinbehandelten Männer während der Testmahlzeit im Labor liegen (vgl. 3.1.1, Tabelle 5). Dies wäre in Einklang mit Daten von De Castro (1988, vgl. 1.5.2.1) zum Essverhalten unter natürlichen Bedingungen, wonach die Nahrungsaufnahme v. a. durch die Mahlzeitgröße und nicht durch den Abstand zur vorherigen Mahlzeit reguliert wird.

Auch bei der Untersuchung der zeitlichen Verteilung der Nahrungsaufnahme über Tag 1 hinweg, konnte kein statistisch relevanter Unterschied zwischen der Insulin- und Placebobedingung gefunden werden. Um Intragruppenvergleiche über die Zeit (vier Messzeitpunkte) zu untersuchen, wurde zusätzlich die Friedman-Rangvarianzanalyse durchgeführt und der zeitliche Verlauf der Nahrungsaufnahme pro Versuchsbedingung (Insulin vs. Placebo) analysiert. Bei dieser Analyse zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den vier Messzeiträumen. Dieser bestand darin, dass in der Gesamtgruppe unter Insulingabe die größte prozentuale Nährstoffmenge mittags (12:00 – 14:59) und am frühen Abend (18:00 – 20:59) aufgenommen wurde. Dieser Effekt war auf die Gruppe der Frauen zurückzuführen, während in der Gruppe der Männer kein signifikanter Unterschied zwischen den vier Messzeiträumen bestand, sondern eine über die Zeit sehr regelmäßige Kalorienzufuhr bestand. Dies entspricht nicht dem üblichen Muster, nachdem Männer v. a. in der ersten Tageshälfte Kalorien aufnehmen und Frauen ihre Nahrungsaufnahme über den Tag hinweg steigern (vgl. 1.5.2.1). Hierbei ist allerdings zu bedenken, dass die Probanden in unserem Experiment im Vorhinein eine 12-stündige Fastenzeit einzuhalten hatten und die Aufzeichnung des natürlichen Essverhaltens zudem erst gegen 13 Uhr begann, sodass sich ihr „normales“ Essverhalten entsprechend verschoben hat.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die erwartete nahrungsaufnahmereduzierende Wirkung von intranasalem Insulin in Form eines im Vergleich zu Placebo größeren Zeitabstandes zwischen der Testmahlzeit und in Form einer veränderten zeitlichen Verteilung der nachfolgenden Nahrungsaufnahme weder für die Gruppe der Männer noch für die der

Frauen nachgewiesen werden konnte.

Korrelative Analysen zum Zusammenhang Kalorienaufnahme respektive relative Nährstoffzusammensetzung und Hormonantwort auf intranasales Insulin/Placebo unter Laborbedingungen

Vorbemerkung:

Wie unter 2.7 und 3.4 ausgeführt, wurden im Gesamtprojekt auch die Effekte von intranasalem Insulin auf die Freisetzung der peripheren Hormone Insulin, Leptin und Östrogen untersucht. Diese Daten belegten einen signifikanten Unterschied für die Substanzgruppen (Insulin vs. Placebo) in Bezug auf den peripheren Insulinspiegel, der in der Gesamtgruppe signifikant wurde und dabei auf die Gruppe der Männer zurückging (auch signifikanter Unterschied): Bei Männern kam es unter intranasalem Insulin zu einem Anstieg des Plasmainsulins relativ zum Baselinespiegel, wohingegen sich unter Placebobedingungen eine Abnahme des Insulinspiegels einstellte. Bei Frauen kam es dagegen unter beiden Substanzbedingungen zu einem Anstieg des peripheren Insulins, der sogar tendenziell höher bei den insulinbehandelten Frauen ausfiel. Für Leptin und Östrogen zeigte sich weder in der Gesamtgruppe – noch getrennt nach Männer und Frauen – ein Unterschied zwischen den insulin- und placebobehandelten Probanden. Der periphere Leptinspiegel nahm jeweils in beiden Substanzbedingungen (Insulin und Placebo) richtungsmäßig unter das Baselineniveau ab, während der periphere Östrogenspiegel zunahm.

Unter der Annahme, dass die insulininduzierten Veränderungen der peripheren Hormone auch Indikator der ZNS-Wirkungen von intranasalem Insulin sind und eine mögliche Medierung der zentralen Insulinwirkungen abbilden, wurden die Korrelationen zwischen den Hormonveränderungen an Tag 1 und (a) der Gesamtkalorienaufnahme sowie (b) den Nährstoffanteilen – ebenfalls jeweils an Tag 1 – berechnet. Es sei aber einschränkend nochmals betont, dass diese Variablen nicht zeitgleich erhoben wurden, sondern dass die Daten der endokrinen Parameter unter Laborbedingungen an Tag 1 gemessen wurden, während sich die Daten zu den relativen Nährstoffanteilen auf das zeitlich spätere Essverhalten unter natürlichen Bedingungen außerhalb des Labors von Tag 1 beziehen.

(a) Paarweise Korrelation zwischen der Gesamtkalorienmenge und den Hormonen Insulin, Leptin und Östrogen

Für die Gruppe der Männer wurde ein negativer Zusammenhang zwischen der Gesamtkalorienmenge und der Veränderung des peripheren Insulinspiegels erwartet.

Grundlage für diese Erwartung waren Ergebnisse aus vorangegangenen Studien, die zeigten, dass der periphere Insulinspiegel positiv korreliert mit dem zentralen Insulinspiegel (Somogyi et al., 2011) und eine Erhöhung des zentralen Spiegels mit einer Abnahme der Kalorienaufnahme einherging, also eine negative Korrelation vorlag. Statt des erwarteten negativen Zusammenhangs zwischen Gesamtkalorienmenge und dem peripheren Insulinspiegel zeigte sich in unserer Studie nach intranasaler Insulingabe bei Männern richtungsmäßig ein schwach positiver Zusammenhang, wohingegen in der Placebogruppe (annähernd) eine Nullkorrelation auftrat.

Für die Gruppe der Frauen wurden die Zusammenhänge zum peripheren Leptin- und Östrogenspiegel besonders adressiert, und es wurde ein negativer Zusammenhang zwischen der Gesamtkalorienmenge und dem peripheren Leptin- bzw. Östrogenspiegel erwartet. Auch hier stellten sich keinerlei signifikante Befunde ein.

Der fehlende negative Zusammenhang zwischen Gesamtkalorienmenge und Östradiolspiegel könnte daran liegen, dass in der hier untersuchten Stichprobe möglicherweise nicht die in der Literatur beschriebene Steigerung der zentralen Insulinsensitivität durch Östrogen (vgl. 1.3.3; Geer & Shen, 2009) vorliegt. So hatte sich ja unter intranasalem Insulin kein substanzspezifisches Ergebnismuster in peripheren Östrogenspiegeln eingestellt.

Zusammenfassend: Es ließen sich somit keine signifikanten korrelativen Zusammenhänge zwischen der Gesamtkalorienmenge und den unter akuter Insulin- und Placebogabe induzierten peripheren Hormonspiegeln von Insulin, Leptin und Östrogen nachweisen, weder was die einzelnen Korrelationskoeffizienten, noch was mögliche Unterschiede der Korrelationskoeffizienten zwischen Insulin- und Placebobedingung betrifft.

- (b) Paarweise Korrelation zwischen den prozentualen Nährstoffanteilen Fett und Kohlenhydrate und den Hormonen Insulin, Leptin und Östrogen

Es wurde auf Grundlage von Daten aus tierexperimentellen Studien (Chavez et al., 1996; Van Dijk et al., 1997; vgl. auch 1.5.2.2) erwartet, dass in der Gruppe der Männer bei denjenigen, die intranasales Insulin erhalten haben, eine negative Korrelation zwischen dem peripheren Insulinspiegel und dem relativen Fettkonsum sowie eine positive Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenhydratanteil und dem peripheren Insulinspiegel vorliegt. Es liegen bisher keine Daten zu Effekten bei weiblichen Organismen vor, sodass für die Gruppe der Frauen die gleichen Zusammenhänge angenommen wurden.

Prozentualer Fettkonsum:

Qualitativ zeigte sich nach der Gabe von intranasalem Insulin in der Gesamtgruppe die erwartungsgemäß negative Korrelation zwischen Veränderung des Insulinspiegels und des Fettkonsums, d. h. bei stärkerem Insulinstieg war ein geringerer Fettkonsum zu beobachten. Die Korrelation blieb dabei zwar in der Gesamtgruppe statistisch unbedeutend, wurde aber in der Gruppe der weiblichen Probanden signifikant ($p < 0.05$), während in der Gruppe der Männer Nullkorrelationen vorlagen.

Die Effekte im Leptinspiegel fielen genau umgekehrt aus: Nach intranasaler Insulingabe zeigte sich sowohl in der Gesamtgruppe als auch in der Gruppe der Frauen eine positive Korrelation zwischen Leptinspiegel und Fettkonsum, während in der Kontrollgruppe ein negativer Zusammenhang zu beobachten war, der nur in der Gesamtgruppe signifikant war. Die Intergruppenunterschiede zwischen den Korrelationskoeffizienten (relativer Fettanteil \times Veränderung des Leptinspiegels) der Insulin- vs. Placebobedingung wurden dabei sowohl für die Gesamtgruppe als auch für die Subgruppe der Frauen signifikant.

Es ist bekannt, dass die beiden Adipositassignale Leptin und Insulin eine geschlechtsspezifische Wirkung auf die Nahrungsaufnahme haben, wobei Leptin mit dem für Frauen typischen subkutanen Fett korreliert ist und der periphere Insulinspiegel eher mit dem für Männer typischeren viszeralen Fettgewebe (vgl. 1.3.1). Dass in der Gesamtgruppe sowie in der Gruppe der Frauen nach intranasaler Insulingabe ein positiver Zusammenhang zwischen der Veränderung des peripheren Leptinspiegels (unter den akuten Laborbedingungen nach intranasaler Insulin- bzw. Placebogabe) und dem anschließendem Fettkonsum auftrat, erscheint daher widersprüchlich. Eine mögliche Erklärung für den positiven Zusammenhang zwischen der Veränderung im peripheren Leptinspiegel und dem Fettkonsum, könnte sein, dass der Fettkonsum durch die Gabe von intranasalem Insulin abnahm, während der Leptinspiegel von der Substanzgabe im Vergleich zur Placebogabe weitgehend unbeeinflusst blieb. Ein weiterer Ansatzpunkt für die Erklärung des widersprüchlichen Ergebnisses könnte im Östrogenspiegel liegen. Es ist bekannt, dass Östrogen die geschlechtsspezifische Sensitivität für die beiden Adipositassignale reguliert, indem es die Insulin-Wirkung inhibiert und die Effekte von Leptin potenziert (Begg & Woods, 2013; vgl. auch 1.3.3). Eine relative Abnahme des Östrogenspiegels in der Gruppe der Frauen könnte daher die eigentlich zu erwartende Wirkung von Leptin abgeschwächt haben.

Zusammenfassend konnte für die Gruppe der Frauen unter intranasaler Insulingabe ein signifikant negativer korrelativer Zusammenhang zwischen dem (im Labor gemessenen) Plasma-Insulin-Spiegel und dem Fettkonsum nachgewiesen werden, welcher vermutlich auf eine modulierende Wirkung des zentralen Insulins auf das Transmittersystem zurückzuführen ist. Darüber hinaus ließ sich für die Gruppe der Frauen und für die

Gesamtgruppe – ebenfalls unter intranasaler Insulingabe – ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen dem Plasma-Leptin-Spiegel und dem Fettkonsum aufzeigen. Dieses Ergebnis scheint im Widerspruch zu bisherigen Daten der Wirkung von Leptin auf die Nahrungsaufnahme zu stehen.

Prozentualer Kohlenhydratkonsum:

Bei der Prüfung der korrelativen Zusammenhänge zwischen dem prozentualen Kohlenhydratkonsum und den Plasmaspiegeln der Hormone Insulin, Leptin und Östrogen zeigte sich folgendes Ergebnismuster:

In der Gesamtgruppe und der Gruppe der Frauen zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen dem prozentualen Kohlenhydratanteil und dem Plasma-Insulin-Spiegel. Dieser positive Zusammenhang bestand richtungsmäßig bei Frauen auch unter Placebogabe, verfehlte hier aber massiv das Signifikanzniveau. In der Gruppe der Männer blieben die entsprechenden Korrelationen komplett unbedeutend. Es ergaben sich insgesamt auch Intergruppenunterschiede der Korrelationskoeffizienten.

Der – sowohl für die Gesamtgruppe als auch getrennt nach Männern und Frauen – im Rahmen der Laborsitzung im Vergleich zum Baselinespiegel nachgewiesene Anstieg des Plasma-Insulinspiegels könnte über eine Insulin-induzierte Hypoglykämie zu einem vermehrten Hunger nach Kohlenhydraten führen (Geiselman & Novin, 1982). Denn es ist bekannt, dass zentrales Insulin die periphere Glukose-Produktion (Glukogenogenese) unabhängig vom peripheren Insulinspiegel hemmt (Obici et al., 2002). Darüber hinaus steigert peripheres Insulin die Glykogensynthese (Scherer et al., 2013). Durch diese beiden Mechanismen kommt es zu einer Abnahme des peripher zirkulierenden Glukosespiegels mit einer reaktiven Erhöhung der Neurotransmitter γ -Aminobuttersäure (GABA), NPY und NA, welche zu einer vermehrten Aufnahme von Kohlenhydraten bei unverändertem Fett- und Eiweißanteil führen (Leibowitz, 1992). Da Frauen nach der Pubertät zur Deckung ihres Energiebedarfs v. a. die Kohlenhydrataufnahme bevorzugen, wohingegen Männer eher zur Proteinaufnahme tendieren (Leibowitz, 1992), könnte dies eine Erklärung sein, warum der positive korrelative Zusammenhang zwischen dem zentralen Insulinspiegel und der Kohlenhydrataufnahme nur in der Gruppe der Frauen signifikant wurde.

Was den relativen Kohlenhydratkonsum betrifft, sind die deutlichsten Effekte in den Korrelationen zwischen dem prozentualen Kohlenhydratkonsum und dem Leptinspiegel zu finden: Für die Gesamtgruppe stellte sich ein signifikant negativer Zusammenhang infolge der Gabe von intranasalem Insulin und ein signifikant positiver Zusammenhang infolge der Placebogabe ein. Entsprechend ergab sich auch ein hochsignifikanter Unterschied der

Korrelationskoeffizienten zwischen der Insulin und der Placebogruppe. Dieser Effekt zeigte sich qualitativ auch in der Gruppe der Männer sowie in der Gruppe der Frauen, erreichte jedoch bei beiden Subgruppen nicht das Signifikanzniveau. Der Unterschied zwischen den Rangkorrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebobedingung wurde sowohl für Männer als auch Frauen signifikant, was auf den gegensinnigen Zusammenhang zwischen Leptin-Spiegel und relativem Kohlenhydratkonsum mit vs. ohne zentraler Insulinwirkung spricht.

Die Ursache für diesen gegensinnigen Zusammenhang unter dem Einfluss von intranasalem Insulin bleibt unklar, v. a. da die Gabe von intranasalem Insulin im Rahmen der Laborsitzung im Vergleich zur Kontrollgruppe keinen Einfluss auf den Plasma-Leptin-Spiegel hatte.

Leptin wird von den Adipozyten freigesetzt und spiegelt den aktuellen Energiespeicher in Form des subkutanen Fettgewebes wieder (vgl. 1.3.1). Ein hoher Plasma-Leptin-Spiegel ist daher Ausdruck einer hohen Fettmasse. Entsprechend könnte ein Anstieg des Plasma-Leptin-Spiegels möglicherweise signalisieren, dass zur Deckung des aktuellen Energiebedarfs weniger Fett benötigt wird, (da die Langzeitenergiespeicher in Form von Fettgewebe ausreichend vorhanden sind,) sondern eher auf Kohlenhydrate als Energielieferant zurückgegriffen wird. Dies wäre eine mögliche Erklärung, warum unter Placebobedingungen ein positiver korrelativer Zusammenhang zwischen dem Plasma-Leptin-Spiegel und dem Kohlenhydratkonsum auftrat.

Warum die Gabe von intranasalem Insulin zu einem gegensinnigen Zusammenhang führte, ohne, dass der periphere Leptin-Spiegel beeinflusst wurde, ist ebenfalls unklar. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte eine Interaktion zwischen dem zentralen Insulin-Spiegel und dem zentralen Leptin-Spiegel sein. Carvalheira, Torsoni, Ueno, Amaral, Araújo, Velloso...Saad (2005) verglichen in ihrer Studie die Wirkung der einmaligen, intracerebroventriculäre (icv) Gabe von Placebo, Insulin, Leptin oder einer Kombination aus Insulin und Leptin nach einer 6-stündigen Fastenperiode auf das Essverhalten von Ratten. Es kam – im Vergleich zur Kontrollgruppe – sowohl nach Insulin- (Abnahme um 26%) als auch nach Leptin-Gabe (Abnahme um 24%) zu einer signifikanten Abnahme der Nahrungsaufnahme in den folgenden 12 Stunden. Diese Abnahme war jedoch noch ausgeprägter in der Gruppe, die Insulin und Leptin gleichzeitig erhielt (Abnahme um 50%). Der zu Grunde liegende Mechanismus dieser Potenzierung scheint eine Überlappung der Signalwege von den zentralen Insulin- und Leptin-Rezeptoren auf Ebene der PI3-Kinase zu sein (Carvalheira et al., 2005; Sánchez-Lasheras et al., 2009; Somogyi et al., 2011). Diese direkte Vernetzung zwischen dem zentralen Insulin- und Leptin-Signalweg und die damit verbundene Verstärkung des Sättigungssignals könnte dazu führen, dass im Hypothalamus ein Energieüberfluss vermittelt wird. Die Folge wäre eine drastische Reduktion der Nahrungsaufnahme mit der Folge, dass trotz hoher Leptinspiegel die Kohlenhydrataufnahme

abnimmt und ein negativer korrelativer Zusammenhang auftritt.

Die Ergebnisse dieser korrelativen Analysen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Auf der Ebene der korrelativen Zusammenhänge zwischen akuten hormonellen Veränderungen unter Insulingabe und dem anschließenden Essverhalten unter natürlichen Bedingungen erweisen sich insbesondere die Veränderungen im Plasma-Leptinspiegel als substanzspezifisch hoch mit dem relativen Fettkonsum und dem relativen Kohlenhydratkonsum assoziiert. Dabei gehen diese Befunde insbesondere auf die Gruppe der Frauen zurück. Die Ursache für diesen geschlechtsspezifischen Effekt von intranasalem Insulin könnte erneut auf den Östrogenspiegel zurückzuführen sein. Zudem ist zentralnervös wirksames Leptin ja speziell bei weiblichen Organismen ein kataboles Signal (z. B. Clegg et al., 2003). Der Interaktion zwischen zentral wirksamem Insulin und Leptin und den Effekten auf das nährstoffspezifische Essverhalten muss in weiteren Studien nachgegangen werden.

4.2 Methodische Einschränkungen

Methodische Einschränkungen der vorliegenden Arbeit betreffen folgende Aspekte:

Ernährungstagebücher

Grundlage der Auswertung der hier berichteten Daten sind die Ernährungstagebücher, welche die Probanden über drei Tage geführt haben. Eine Schwäche bei der Verwendung dieses Messinstruments sind – wie bereits unter 1.5.1 dargestellt – mögliche Einschränkungen der Datengüte, sofern die Probanden die sehr standardisierten Vorgaben nicht einhielten und der hohe zeitliche Aufwand sowohl bei der Erhebung der Daten als auch in der Auswertung dieser. Um mögliche qualitative Unterschiede möglichst gering zu halten, erhielten die Probanden neben schriftlichen Instruktionen auch eine Übersicht an Küchenmaßen und füllten ein Testtagebuch auch, welches mit jedem Probanden vor Beginn der Laborsitzung besprochen wurde. Trotzdem ist davon auszugehen, dass Ungenauigkeiten aufgetreten sind, da vermutlich nicht jeder Proband jeder Mahlzeit exakt abgewogen hat.

Um bei der Auswertung der Ernährungstagebücher mögliche Ungenauigkeiten in den Angabe der Probanden immer auf die gleiche Weise zu interpretieren, wurde die Eingabe der Daten in die Software FCMS Diät 2000 (vgl. 2.2.1.2) nur durch eine Person durchgeführt und von einer weiteren Person Korrektur gelesen.

Eine Schwäche bei der Erhebung des Essverhaltens liegt ggf. auch darin, dass die Ernährungstagebücher in Papierform erhoben wurden. Es ist anzunehmen, dass nicht jeder

Proband dieses ständig mit sich geführt hat, sodass Mahlzeiten wahrscheinlich auch nachträglich aus der Erinnerung heraus eingetragen worden sind. Hierdurch könnten sich ggf. weitere Ungenauigkeiten ergeben haben. Im Zeitalter digitaler Medien wäre beispielsweise eine Anwendungssoftware für Mobilfunkgeräte denkbar. Diese hätte den Vorteil, dass die Probanden das Ernährungstagebuch jederzeit mit sich führen könnten. Darüber hinaus könnten weitere Daten wie z. B. die Uhrzeit der Nahrungsaufnahme automatisch mit erfasst werden. In den dieser Studie zugrunde liegenden Ernährungstagebüchern wurden von den Probanden ggf. geschätzte Uhrzeiten oder nur Zeiträume der Nahrungsaufnahme angegeben.

Die Verwendung einer Anwendungssoftware für Mobilfunkgeräte hätte darüber hinaus den Vorteil, dass eine direkte Übermittlung der Daten möglich und die Auswertung mit einer entsprechenden Software erleichtert wäre, da die Daten bereits in digitaler Form vorliegen würden.

In künftigen Studien wäre es interessant, die Art und Weise der Nahrungsaufnahme zu erfassen. So ist es von Interesse, ob die Nahrung alleine oder in Gruppe aufgenommen wurde (vgl. 1.5.2.1), ob die Nahrung im Sitzen oder Laufen zu sich genommen wurde oder ob das Essen bewusst erfolgte oder eine Ablenkung z. B. durch einen eingeschalteten Fernsehapparat vorlag. Auch das subjektive Hungergefühl oder beschreibende Eigenschaften der Nahrungsmittel, wie z. B. der Geruch oder Geschmack (vgl. auch 4.3.2), könnten mit erfasst werden.

Um eine bessere Vergleichbarkeit mit den vorliegenden Studien im Human- und Tierbereich zu erzielen, wurde bei der Auswertung der Gesamtkalorienmenge der konsumierte Alkohol (in kcal) von der Gesamtbilanz abgezogen. Hierdurch wurde zwar eine bessere Vergleichbarkeit mit anderen Studien erzielt, jedoch wurde hierfür eine Ungenauigkeit bei der Berechnung der Gesamtkalorienaufnahme in Kauf genommen. Zukünftige Studien sollte daher – auf Kosten der Vergleichbarkeit – auf die Subtraktion des Alkoholanteils an der Gesamtkalorienmenge verzichten.

Unsere Daten wurden im Rahmen eines DFG-Projekts (vgl. 1.4.3) gewonnen, bei dem verschiedene Aspekte der Wirkungen von intranasalem Insulin untersucht wurden (so z. B. endokrine Parameter, Blutzuckerspiegel, Gedächtnis). Neben der Untersuchung des Essverhaltens unter natürlichen Bedingungen wurde auch das Essverhalten im Rahmen der Laborsitzung in Form einer Testmahlzeit ermittelt. Die in dieser Testmahlzeit aufgenommenen Kalorien wurden für unsere Fragestellung von der Gesamtkalorienmenge an Tag 1 abgezogen, um ausschließlich das Essverhalten unter natürlichen Bedingungen untersuchen zu können. In der Testmahlzeit konsumierten die männlichen Probanden signifikant weniger Kalorien als die Placebo Kontrollen (vgl. Blicke, 2009). Dieser Effekt bei

den männlichen Probanden blieb in der vorliegenden Analyse unberücksichtigt, wodurch die nahrungsaufnahmereduzierenden Effekte von intranasalem Insulin durch die Beschränkung auf das natürliche Essverhalten unterschätzt werden.

Stichprobenumfang

In nachfolgenden Studien sollte über eine Erhöhung des Stichprobenumfangs nachgedacht werden. An der Studie nahmen 31 bzw. 32 Probanden pro Substanzgruppe (Insulin, Placebo) und 15 bzw. 16 Probanden in den Subgruppen (Männer vs. Frauen) teil. Berechnungen der Effektstärken der Gruppenunterschiede (Cohen's d) etwa für den Vergleich der Gesamtkalorienmenge an Tag 1 bis 3 ergaben mittlere Effekte in der Gesamtgruppe sowie der Gruppe der Frauen. Im Rahmen der Analyse der prozentualen Nährstoffzusammensetzung zeigte sich an Tag 1 sowohl für den prozentualen Fettanteil als auch für den relativen Kohlenhydratanteil in der Gesamtgruppe und auch getrennt für die Subgruppe der Männer und Frauen ein mittlerer Effekt. Auf Grundlage dieser Effektstärken erscheint es daher sinnvoll, größere Probandengruppen zu untersuchen.

Meal pattern

Wie bereits unter 4.1 dargestellt, ist die Aussagekraft des *Meal pattern* dahingehend limitiert, als, dass auf Grund des Versuchsdesigns die Probanden an Tag 1 erst um die Mittagszeit (ab 11:55 bzw. 12:40, vgl. 2.3.2) mit der Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen beginnen konnten und es hierdurch zu einer Verschiebung des *Meal pattern* kam. In zukünftigen Studien wäre es daher von Interesse den Versuchsaufbau dahingehend zu ändern, dass die übliche zeitliche Nahrungsaufnahme der Probanden beibehalten werden kann. Evtl. ließen sich dann zwischen den Gruppen deutlichere Unterschiede im *Meal pattern* feststellen.

Korrelationen

Bezüglich der Aussagekraft der korrelativen Zusammenhänge zwischen der peripheren Hormone und der Gesamtkalorienaufnahme bzw. der Makronährstoffe ist anzumerken, dass die Erfassung dieser beiden Maße zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgte. So wurden die Hormonspiegel im Rahmen der Laborsitzung erhoben und die Gesamtkalorienaufnahme – zeitlich verzögert – unter natürlichen Bedingungen. Dies war im Sinne unserer Fragestellung legitim, da wir den Effekt der akuten Veränderung der Hormonspiegel durch die Gabe von intranasalem Insulin im Labor auf die Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen

untersuchen wollten und die Responsivität auf die akute intranasale Substanzgabe als möglicher Prädiktor für das Verhalten unter natürlichen Bedingungen herangezogen werden sollten. In einem zukünftigen Experiment wäre es aber auch denkbar, die Hormonspiegel über die Zeit hinweg, z. B. durch zwei weitere Messzeitpunkt mittags und abends, zu erfassen, um auch die akuten Hormonspiegel mit dem Essverhalten in Verbindung zu bringen. Von Nachteil wäre bei diesem Versuchsaufbau allerdings, dass durch jede weitere Messung ggf. eine Störung des natürlichen Essverhaltens erfolgt.

4.3 Forschungsperspektiven

Auf Grundlage der in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse werden nun einige Ansätze für künftige Forschungen aufgezeigt, um die erlangten Erkenntnisse zu vertiefen. Dabei werden 1.) die Hauptzielvariablen nochmals adressiert und Forschungsperspektiven aufgezeigt, bevor 2.) weitere Forschungsthemen benannt werden.

4.3.1 Hauptzielvariablen

Gesamtkalorienmenge

Wie bereits unter 4.2 diskutiert, wäre ein möglicher Ansatzpunkt für künftige Forschungen auf die Subtraktion des Alkoholanteils zu verzichten. Hierdurch könnten sich ggf. weitere geschlechtsspezifische Veränderungen in der Makronährstoffaufnahme ergeben.

Für künftige Studien könnte es auch von Interesse sein das Essverhalten der Probanden bereits einige Tage vor der Intervention zu erfassen. So könnten die Probanden in der jeweiligen Subgruppe bzgl. ihres Essverhaltens mit sich selbst verglichen werden, also vor und nach der Intervention.

Prozentuale Nährstoffzusammensetzung

Die Daten der vorliegenden Studie weisen auf einen wichtigen Effekt intranasal wirksamen Insulins auf die Qualität der anschließenden Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen hin, wobei eine Reduktion des relativen Fettanteils bei Erhöhung des Kohlenhydratanteils nachweisbar war. Die Ergebnisse belegen dabei, dass der akut (Tag 1) fettkonsumreduzierende Effekt von zentralem Insulin bei beiden Geschlechtern auftritt, wobei er bei den männlichen Probanden auch nachhaltig (Tag 2) nachweisbar war. Die Ursache

hierfür könnte in den Geschlechtshormonen – insbesondere Östrogen – begründet sein. Die weiblichen Probanden dieser Studie waren freizyklisch, also nahmen weder orale Kontrazeptiva ein, noch lag eine Schwangerschaft vor. Künftige Forschungen sollten daher freizyklische Frauen zum Zeitpunkt des höchsten Östrogenspiegels (Ovulationsphase) mit Frauen vergleichen, welche orale Kontrazeptiva einnehmen, um möglichen Wechselwirkungen von Östrogen und zentralem Insulin aufzudecken. So ist aus vorherigen Studien bekannt, dass die Entfernung des Östrogenrezeptors ER α im Ncl. ventromedialis des Hypothalamus von Ratten zur Entwicklung eines metabolischen Syndroms mit u. a. Gewichtszunahme und Insulinresistenz führt (Musatov, Chen, Pfaff, Mobbs, Yang, Clegg...Ogawa, 2007). Östrogen kommt dabei eine protektive Funktion im Hinblick auf die Entstehung von metabolischen Erkrankungen zu, indem es die systemische Insulin-Sensitivität verbessert (Foryst-Ludwig & Kintscher, 2010). Entsprechende Vergleiche zwischen prä- und postmenopausalen Frauen belegen, dass sich die beiden Gruppen hinsichtlich des Plasma-Insulin- und Blutzuckerspiegels nicht unterscheiden, allerdings ist die Insulin-Sensitivität bei den postmenopausalen Frauen signifikant verringert (Gaspard, 2009). Somit ist die Einbeziehung von männlichen und weiblichen Probanden in Studien zu den Effekten von intranasalem Insulin sehr wichtig, was in der vorliegenden Studie ja auch erfolgt ist. In Folgestudien sollten daher explizit freizyklische Frauen in unterschiedlichen Zyklusphasen aufgenommen werden und auch Frauen, die Kontrazeptiva einnehmen.

Wie bereits unter 1.5.2.1 und 4.1 erwähnt, gibt es bei der Aufnahme der Makronährstoffe tageszeitliche Präferenzen. So konsumieren Menschen am frühen Morgen v. a. Kohlenhydrate, wohingegen Fette besonders in den Abendstunden aufgenommen werden (De Castro, 1987; Leibowitz, 1992). Eine an diese circadiane Rhythmik angepasste Gabe von intranasalem Insulin könnte daher noch deutlicher nährstoffassoziierte Effekte aufdecken. Zukünftige Studien sollten daher das Studiendesign dahingehend ändern, dass die Insulingabe am Mittag bzw. am Abend erfolgt und anschließend das natürliche Essverhalten v. a. in Bezug auf die Makronährstoffaufnahme untersuchen. Anzumerken ist, dass bei diesem Ansatz natürlich eine 12-stündige Fastenperiode für die Probanden schwieriger einzuhalten wäre und das *Meal pattern* wahrscheinlich nicht verwertbar ausgewertet werden könnte.

Meal pattern

Die Aussagekraft der Ergebnisse zum *Meal pattern* ist auf Grund des Versuchsdesigns mit Beginn des natürlichen Essverhaltens an Tag 1 um die Mittagszeit eingeschränkt (vgl. 4.2). Wie unter 1.5.2.1 beschrieben, nehmen Männer aber v. a. in der ersten Tageshälfte Nahrung zu sich und gegen Abend zunehmend weniger. In zukünftigen Studien sollte das

Versuchsdesign dahingehend geändert werden, dass neben einer frühen Substanzgabe auch der Zeitpunkt des Beginns der natürlichen Nahrungsaufnahme möglichst am Morgen gewählt wird, damit die Probanden ihre „normale“ zeitliche Nahrungsaufnahme beibehalten können.

4.3.2 Weitere zu adressierende Forschungsperspektiven

Intranasales Insulin bei Übergewicht und Adipositas

In dieser Studie konnte erstmals für den Humanbereich unter natürlichen Bedingungen belegt werden, dass die Nährstoffzusammensetzung durch die Gabe von intranasalem Insulin derart beeinflusst wird, dass es zu einem signifikant geringeren Fettkonsum und einem höheren Kohlenhydratkonsum kommt. Dies legt nahe, dass eine erhöhte Signalfunktion von Insulin im ZNS (durch zusätzliche intranasale Insulingaben unterstützt) eine gesündere Kalorienzufuhr (relativ weniger fetthaltige Nahrung) begünstigt. Es könnte so ggf. erreicht werden, dass durch die (zeitweise) exogene Zufuhr von intranasalem Insulin sich die Deckung des Energiebedarfs bzw. die tatsächliche Energiezufuhr stärker in Richtung des empfohlenen Zufuhrmusters mit einem Fettanteil von unter 35% und einem Kohlenhydratanteil von nahezu 50% verschiebt (vgl. 1.5.2.2; Suter, 2008). Dies entspricht den europäischen Referenzwerten für die Aufnahme von Nährstoffen (Fettanteil 25-35%, Kohlenhydratanteil 45-60%), welche durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit festgelegt wurden (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, 2010a, 2010b). Zudem ist zu erwarten, dass eine verbesserte Signalfunktion von Insulin im ZNS auch die periphere Insulinsekretion (Blicke, 2009), den Fettstoffwechsel (Scherer et al., 2013) und die hepatische Insulinsensitivität günstig beeinflusst.

Die hier aufgezeigten Gruppenunterschiede im Nährstoffmuster sind auch insofern von Bedeutung, als dass eine verminderte Fettaufnahme mit einer Reduktion des Körpergewichts und damit mit einem verringerten Risiko für metabolische Erkrankungen einhergeht. So konnten Sheppard, Kirstel und Kushi (1991) mit gesunden Frauen nachweisen, dass eine Ernährungsumstellung mit einem reduzierten Fettkonsum langfristig zu einer Verminderung des Körpergewichts führt, die auf den reduzierten Fettkonsum und weniger auf eine reduzierte Gesamtkalorienaufnahme zurückzuführen war. Um einen möglichen therapeutischen Nutzen dieser Ergebnisse zu untersuchen, sollte das Essverhalten von normalgewichtigen Frauen mit dem von Übergewichtigen im Anschluss an die Gabe von intranasalem Insulin verglichen werden. Die Zufuhr von intranasalem Insulin könnte möglicherweise als Therapeutikum eines durch Fehlernährung bedingten Übergewichts

eingesetzt werden.

Für den fettkonsumreduzierenden Effekt von zentralem Insulin scheinen zwei Grundvoraussetzungen essentiell zu sein: (a) eine entsprechende Erhöhung des zentralen Insulinspiegels und (b) eine Sensitivität des ZNS für Insulin.

Zunächst zur Rolle des zentralen Insulinspiegels: Bei Normalgewichtigen geht die akute Steigerung des Plasma-Insulin-Spiegels mit einer Steigerung des zentralen Insulin-Spiegels einher (Hallschmid, Schultes, 2009; Palouzier-Paulignan, Lacroix, Aime, Baly, Caillol, Congar...Fadool, 2012). Bei Übergewichtigen liegt ein deutlich höherer Plasma-Insulin-Spiegel vor als bei Normalgewichtigen, ohne dass es zu einer vergleichbaren Erhöhung des zentralen Insulin-Spiegels kommt. Die Ursache hierfür scheint in den Eigenschaften des sättigbaren Transportsystems von Insulin über die BHS zu liegen, dessen Transportrate proportional zum Serum-Insulin-Spiegel abnimmt (Banks, Jaspar, Huang, Kastin, 1997; Kaiyala et al., 2000; Ketterer, Tschritter, Preissl, Heni, Häring, Fritsche, 2011a). Dies hat zur Folge, dass die bei Übergewichtigen (infolge der peripheren Insulinresistenz) auftretende Hyperinsulinämie nicht proportional auf das ZNS übertragen wird. Hierdurch verändert sich das Verhältnis zwischen dem zentralen (cerebrospinalen) und peripheren Insulin-Spiegel und der Quotient der CSF:Plasma-Insulin ist geringer (Kern et al., 2006; vgl. auch 1.3.1; Kaiyala et al., 2000). Zukünftige Forschungen sollten daher untersuchen, bis zu welchem Grad an Übergewicht eine Erhöhung des Plasma-Insulin-Spiegels auch mit einer Erhöhung des zentralen Insulinspiegels einhergeht. Hierzu könnten die Probandengruppen – der gängigen klinischen Einteilung folgend – anhand des BMI nach folgendem Schema gebildet werden: Übergewicht (auch als Präadipositas bezeichnet) 25.0-29.9 kg/m², Adipositas Grad 1 30.0-34.9 kg/m², Adipositas Grad 2 35.0-39.9 kg/m², Adipositas Grad 3 >40kg/m² (Herold, 2006).

Zur zentralen Insulin-Sensitivität: Wie unter 1.6 beschrieben, ist Übergewicht nicht nur mit einer peripheren, sondern auch mit einer zentralen Insulin-Resistenz assoziiert, was sich auch in einer mangelnden Sensitivität für die nahrungsaufnahmereduzierenden Effekte von intranasalem Insulin bei Übergewichtigen gezeigt hat. Hallschmid und Kollegen (2004) untersuchten die Effekte von intranasalem Insulin auf das Essverhalten von adipösen (durchschnittlicher BMI Insulin: 32.34 bzw. Placebo: 33.13 kg/m²), männlichen Probanden, wobei sich die Versuchspersonen über 8 Wochen täglich 4-mal intranasales Insulin oder Placebo verabreichten in einer täglichen Gesamtdosis von 160 IU. Nach 8 Wochen hatte das intranasales Insulin keine Effekte auf das Körpergewicht der übergewichtigen Probanden, jedoch führte es zu einer besseren Gedächtnisleistung. Die Autoren schlossen hieraus, dass bei Übergewichtigen eine selektive Insulin-Resistenz auftritt, welche ausschließlich Hirnareale betrifft, die normalerweise die nahrungsaufnahmereduzierende Wirkung von zentralem Insulin vermitteln. Die Ursache für die Entstehung einer solchen zentralen

Insulinresistenz könnten inflammatorische Veränderungen sein. So liegen Studien vor, die belegen, dass eine chronisch erhöhte Fett-Aufnahme zu inflammatorischen Veränderungen im Kortex führt, welche eine Störung der Aktivität der POMC-Neurone sowie Insulin-Resistenz zur Folge haben (Shefer, Marcus, Stern, 2013).

Die zentrale Insulin-Resistenz scheint vergleichbar mit einer peripheren Insulin-Resistenz, wie sie Rahmen von Diabetes mellitus Typ 2 auftritt, welche in der Regel mit Übergewicht einhergeht. Ein Schwerpunkt in zukünftigen Forschungen sollte daher sein, die zentrale Insulin-Resistenz zu überwinden, um sich die fettkonsumreduzierende Wirkung von zentralem Insulin bei der Therapie von Übergewicht zu Nutzen machen zu können. Eine Möglichkeit die Resistenz zu überwinden könnte eine kurzzeitige deutliche Steigung des zentralen Insulin-Spiegels sein. Denkbar wären daher Studien mit Übergewichtigen, die Dosen oberhalb 160 IE erhalten, um zu untersuchen, ob sich hierdurch vergleichbare Effekte auf das natürliche Essverhalten erzielen lassen.

Qualität der Nahrungszusammensetzung

Neben Übergewicht, ausgelöst durch chronische Überernährung, scheint aber auch schon die kurzfristige Aufnahme von sehr fettreicher Nahrung zur Insulin-Resistenz zu führen. So konnten Scherer, Lindtner, Zielinski, O`Hare, Filatova und Buettner (2012) in ihrer Studie mit gesunden männlichen Ratten nachweisen, dass die akute Gabe von hochfetthaltigem Futter über 3 Tage zu einer anschließenden massiven Freisetzung von freien Fettsäuren führte. Die Ursache hierfür lag in einer Störung des Insulin-Signalwegs zum weißen Fettgewebe, wodurch die physiologische Hemmung der Lipolyse wegfiel. Diese unkontrollierte Freisetzung von freien Fettsäuren führte zu inflammatorischen Prozessen und Insulin-Resistenz mit der Entwicklung von Diabetes mellitus Typ 2 als Folge. Es wäre interessant zu untersuchen, ob sich vergleichbare Prozesse auch beim Menschen nach kurzzeitiger fettreicher Ernährung einstellen und ob sich diese durch die Gabe von intranasalem Insulin aufheben lassen.

Weitere neue Wirkprofile zentralen Insulins: Zentrales Insulin und Geruchswahrnehmung sowie Belohnungswirkung von Nahrung

Das Essverhalten wird aber nicht nur durch das Hunger- oder Sättigungsgefühl gesteuert, sondern auch Faktoren wie der Geruch eines Nahrungsmittels oder das assoziierte Belohnungsempfinden (vgl. 1.6) können die Nahrungsaufnahme entscheidend beeinflussen.

Dabei hat sich in den letzten Jahren ein starkes Interesse bzgl. der Beeinflussung des olfaktorischen Systems durch metabolische Signale (so auch durch den Ernährungsstand)

ergeben (zusammenfassend Palouzier-Paulignan et al., 2012).

Grundlage für diese Fragestellungen ist das Vorhandensein von Rezeptoren für anorexigene und orexigene Peptide sowohl in der olfaktorischen Mukosa als auch im Bulbus olfactorius (Palouzier-Pauligna et al., 2012). Tierexperimentelle Studien haben daher u. a. untersucht, inwiefern die Expression dieser Rezeptoren durch den Ernährungszustand beeinflusst wird. Am Beispiel fastender Ratten konnte belegt werden, dass die Tiere bereits nach 14-stündiger Fastenzeit ihre NPY-Rezeptoren in der olfaktorischen Mukosa überexprimierten bzw. nach 48-stündiger Fastenzeit ihre Insulin-Rezeptor-Zahl (Palouzier-Paulignan et al, 2012). Hieraus lässt sich schließen, dass bereits auf Höhe der olfaktorischen Mukosa, also am Beginn der Verarbeitung von Gerüchen, die Information über den aktuellen Ernährungszustand modulierend eingreift. Vermutlich als Folge dieser Anpassungsvorgänge zeigen fastende Ratten im Vergleich zu gesättigten Artgenossen eine gesteigerte olfaktorische Sensitivität (Aime, Duchamp-Viret, Chaput, Savigner, Mahfouz & Julliard, 2007).

Hierauf aufbauend gingen weitere Studien der Frage nach, ob auch durch die Verabreichung von anorexigenen bzw. orexigenen Peptide die Geruchswahrnehmung beeinflusst werden kann. Tong, Mannea, Aime, Pfluger, Yi, Castaneda...Tschöp (2011) untersuchten daher den Effekt von Ghrelin, als appetitstimulierendem Hormon, auf die Geruchswahrnehmung von männlichen Ratten und Menschen. Bei den untersuchten Ratten führte die icv Gabe von Ghrelin im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche isotonische Kochsalzlösung erhielten, zu einer Senkung der Geruchserkennungsschwelle sowie zu einer erhöhten Schnüffelfrequenz. Auch bei den männlichen und weiblichen Probanden konnte nach der systemischen Ghrelin-Infusion im Vergleich zur Kontrollgruppe eine gesteigerte Geruchsreaktion sowohl auf Nahrungsgerüche als auch auf Nicht-Nahrungsgerüche beobachtet werden. Die Bewertung der Annehmlichkeit eines Geruchs blieb dabei unverändert. Mit diesen und weiteren Studien konnte also belegt werden, dass neben dem Fasten auch die Zufuhr von orexigenen, also appetitanregenden, Peptiden die Geruchswahrnehmung verbessern kann.

Entsprechend ist nach der Gabe von anorexigenen Hormonen, welche ein Sättigungsgefühl vermitteln, eine Abnahme der Geruchsleistung zu erwarten. Ketterer, Heni, Thamer, Herzberg-Schäfe, Häring und Fritsche (2011b) untersuchten die Geruchswahrnehmung junger, gesunder Probanden nach einer kurzfristigen, 2-stündigen euglykämischen Hyperinsulinämie. Die gesteigerten Insulin-Spiegel führten bei den Probanden zu einer reduzierten Geruchswahrnehmung. Neben der systemischen Zufuhr, kann auch die intranasale Verabreichung von Insulin die Geruchswahrnehmung beeinflussen. So konnten Brünner, Benedict und Freiherr (2013) für gesunde Probanden (10 Männer, 7 Frauen) belegen, dass die einmalige Gabe von 40 IE Insulin intranasal im Vergleich zu einer Placebokontrollbedingung die olfaktorische Sensitivität der Probanden herabsetzt, ohne,

dass die olfaktorische Diskriminierung beeinträchtigt wurde. Für Leptin liegen vergleichbare Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien vor (zusammenfassend Palouzier-Paulignan et al., 2012). Die intranasale Verabreichung der anorexigenen Hormone Insulin und Leptin führt also bei Menschen zu einer Reduktion der Geruchswahrnehmung und beeinflusst hierdurch ggf. auch die Nahrungsaufnahme, da der Geruchssinn ein wichtiger Faktor bei der Entscheidung für oder gegen ein Nahrungsmittel ist.

Die Geruchswahrnehmung wird somit sehr wahrscheinlich durch den metabolischen Zustand des Individuums mitbeeinflusst werden. Damit in Einklang sind Befunde, dass metabolische Erkrankungen mit Veränderungen der Geruchswahrnehmung einhergehen. So kann es bei starkem Übergewicht zu einem Verlust des Geruchssinns (Anosmie) kommen (Palouzier-Paulignan et al, 2012). Thiebaud, Johnson, Butler, Bell, Ferguson, Fadool...Fadool (2014) konnten bei Mäusen belegen, dass fettreiche Ernährung zu einer reduzierten Geruchswahrnehmung führt. Diese Reduktion kam durch einen apoptotischen Untergang der olfaktorischen Neurone und ihrer axonalen Projektionen zu Stande. Die übergewichtigen Mäuse wurden anschließend auf Diät gesetzt, indem fettreiches Futter entzogen wurde. Trotzdem blieb die olfaktorische Wahrnehmungsstörung bestehen. Fettreiche Ernährung und in der Folge entstehendes Übergewicht führen also zu einer Veränderung des geruchs- und belohnungsgesteuerten Verhaltens durch eine langlebige strukturelle und funktionelle Veränderung im sensorischen System.

Zukünftige Forschungen sollten also neben der aufgenommenen Nahrungsmenge (in kcal) und deren Zusammensetzung aus den Makronährstoffen auch die Geruchswahrnehmung des Essens erfassen, um zu untersuchen, ob die Gabe von intranasalem Insulin diese beeinflusst und ggf. auch die Entscheidung für ein Nahrungsmittel verändert. Denn Guthoff, Grichisch, Canova, Tschritter, Veit, Hallschmid...Fritsche (2010) konnten mit Hilfe der funktionellen Magnetresonanztomographie belegen, dass gesunde Frauen und Männer nach der Gabe von intranasalem Insulin auf die Präsentation von Bildern, die Lebensmittel zeigten, im Vergleich zur Kontrollgruppe eine verminderte neuronale Aktivität in verschiedenen Hirnarealen reagierten. Zu diesen gehörten zum einen Areale, die in die Steuerung des Verlangens nach Nahrung involviert sind (wie dem Hippocampus), und zum anderen Regionen, die für die Wiedererkennung von Objekten und die emotionale Verarbeitung zuständig sind (wie der Gyrus fusiformis). Dieser hemmende Effekt von intranasalem Insulin trat ausschließlich bei der Präsentation von Lebensmittelbildern auf, wohingegen es bei der Präsentation von Nicht-Lebensmittelbildern keinen Unterschied zwischen der Insulin und Placebogruppe bzgl. der Hirnaktivität gab. Diese Studie ist ein weiterer Beleg dafür, dass intranasales Insulin die Nahrungsaufnahme nicht nur über das Sättigungsgefühl steuert, sondern, dass auch Komponenten wie Geruch oder

Wiedererkennung (vielleicht verknüpft mit Empfindungen, wie z. B. Belohnung) eine Rolle spielen. Die Zusammenhänge sind bis heute noch nicht vollständig erfasst und erfordern weitere Forschungen.

In diesem Zusammenhang sollte auch die Belohnungswirkung, welche mit der Aufnahme eines Nahrungsmittels verbunden ist, untersucht werden, denn Insulin und Leptin stehen in enger Wechselwirkung mit dem mesolimbischen Dopamin-System und sind dadurch an der Regulation der Wahrnehmung des Belohnungswertes einer schmackhaften Nahrung mitbeteiligt (Morton, Cummings, Baskin, Barsh, Schwartz, 2006; Myers et al., 2008). Die bei Übergewicht auftretende zentrale Insulin- und Leptin-Resistenz führt dazu, dass der inhibierenden Effekt der beiden Hormone auf das Belohnungssystem wegfällt, sodass die Effekte überwiegen, die durch die Aufnahme von Zucker und Fett ausgelöst werden (La Fleur & Serlie, 2014). Die Belohnungswirkung scheint sich also bei Übergewicht zu verändern. Ob sich dieses verminderte Belohnungsempfinden durch die intranasale Gabe von Insulin beeinflussen lässt oder ob es – vergleichbar mit der Störung der Geruchswahrnehmung – ein dauerhafter Effekt ist, ist bisher noch nicht erforscht.

4.4 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend konnte in der vorliegenden Studie belegt werden, dass die Gabe von intranasalem Insulin zu einer Reduktion des prozentualen Fettkonsums bei gleichzeitiger Zunahme des Kohlenhydratkonsums führt. Dieser Effekt trat im direkten Anschluss an die intranasale Substanzgabe (Tag 1) bei beiden Geschlechtern auf, wobei nur die Gruppe der Frauen das (adjustierte) Signifikanzniveau erreichte. Der Effekt war bei Männern aber nachhaltiger und war auch an Tag 2 nach Substanzgabe noch sichtbar und wurde signifikant, während die weiblichen Probanden nach Insulingabe nun mehr Fett konsumierten als die Placebogruppe. Die Ursache für die fettkonsumreduzierende Wirkung von zentralem Insulin muss für den Humanbereich noch geklärt werden; aus Tierexperimenten liegen Daten zur Mediation über hypothalamisch wirksames Galanin vor. Das geschlechtsspezifische Ergebnis könnte hingegen auf Östrogen zurückzuführen sein. Ein Ansatzpunkt für künftige Forschungen wäre zu untersuchen, inwieweit sich durch eine Veränderung des Östrogenspiegels die Wirkung des zentralen Insulins beeinflussen lässt.

In der vorliegenden Studie gibt es darüber hinaus Belege dafür, dass intranasales Insulin nicht nur die relative Nährstoffaufnahme beeinflusst, sondern im Vergleich zu Placebo auch mit unterschiedlichen korrelativen Zusammenhängen zwischen den Makronährstoffen Fett bzw. Kohlenhydrate und den peripheren Hormonen Insulin, Leptin und Östrogen assoziiert ist, wobei in der vorliegenden Studie peripheres Leptin besonders interessant wurde. Um

diese Effekte weiter zu erforschen, sollten zukünftige Forschungen auch einen Schwerpunkt auf die Beeinflussung der peripheren Hormonspiegel durch die Gabe von intranasalem Insulin legen.

Hinsichtlich der klinischen bzw. therapeutischen Relevanz dieser Ergebnisse ist zusammenfassend festzustellen, dass die fettkonsumreduzierende Wirkung von intranasalem Insulin zu einer Ernährungsumstellung – im Sinne des empfohlenen Zufuhrmusters – und zu einer Gewichtsreduktion genutzt werden könnte. Intranasales Insulin könnte daher möglicherweise als Therapeutikum bei Übergewicht (BMI 25.0-29.9 kg/m²) eingesetzt werden. Inwieweit dies auch für die Behandlung von Adipositas, welches offenbar einhergeht mit einer zentralen Insulin-Resistenz, möglich ist, gilt es zu erforschen. Ein Ansatz könnte neben der Dosisanpassung auch die Kombination mit anderen Hormonen, wie z. B. Leptin oder Östrogen, zur Steigerung der Wirkung sein.

5. Literaturverzeichnis

- ABBOTT Diagnostics Division (2004). Architect Estradiol. Deutschland: Abbott Diagnostics Division.
- ABBOTT Diagnostics Division (2005). Architect Insulin. Deutschland: DENKA SEIKEN CO., LTD.
- Aimé, P., Duchamp-Viret, P., Chaput, M.A., Savigner, A., Mahfouz, M., Julliard, A.K. (2007). Fasting increases and satiation decreases olfactory detection for a neutral odor in rats. *Behavioural Brain Research*, 179, 258-264.
- Air, E.L., Benoit, S.C., Blake Smith, K.A., Clegg, D.J., Woods, S.C. (2002). Acute third ventricular administration of insulin decreases food intake in two paradigms. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 72, 423-429.
- Akabayashi, A., Koenig, J.I., Watanabe, Y., Alexander, J.T., Leibowitz, S.F. (1994). Galanin-containing neurons in the paraventricular nucleus: a neurochemical marker for fat ingestion and body weight gain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 10375- 10379.
- Arble, D.M., Sandoval, D.A. (2013). CNS control of glucose metabolism: response to environmental challenges. *Frontiers in Neuroscience*, 7, 1-13.
- Banks, W.A., Jaspard, J.B., Huang, W., Kastin, A.J. (1997). Transport of insulin across the blood-brain barrier: saturability at euglycemic doses of insulin. *Peptides*, 18, 1423-1429.
- Begg, D.P., Woods, S.C. (2013). Interactions between the central nervous system and pancreatic islet secretions: a historical perspective. *Advances in Physiology Education*, 37, 53-60.
- Belgardt, B.F., Brüning, J.C. (2010). CNS leptin and insulin action in the control of energy homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1212, 97-113.
- Benedict, C., Kern, W., Schultes, B., Born, J., Hallschmid, M. (2008). Differential sensitivity of men and women to anorexigenic and memory-improving effects of intranasal Insulin. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 93, 1339-1344.
- Bernstein, I.L., Zimmermann, J.C., Czeisler, C.A., Weitzman, E.D. (1981). Meal patterns in „free-running“ humans. *Physiology & Behavior*, 27, 621-623.
- Blicke, M. (2009). Insulin im ZNS: akute und langfristige Effekte intranasalen Insulins auf psychologische, endokrine und kognitive Prozesse beim Menschen. Dissertation

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf.

- Born, J., Lange, T., Kern, W., McGregor, G.P., Bickel, U., Fehm, H.L. (2002). Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain. *Nature Neuroscience*, 5, 514-516.
- Boyd Jr., F.T., Clarke, D.W., Muther, T.F., Raizada, M.K. (1985). Insulin receptors and insulin modulation of norepinephrine uptake in neuronal cultures from rat brain. *The Journal of Biological Chemistry*, 260, 15880-15884.
- Brief, D.J., Davis, J.D. (1984). Reduction of food intake and body weight by chronic intraventricular insulin infusion. *Brain Research Bulletin*, 12, 571-575.
- Brüning, J.C., Gautam, D., Burks, D.J., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P.C., Klein, R., Krone, W., Müller-Wieland, D., Kahn, C.R. (2000). Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science*, 289, 2122-2125.
- Brünner, Y.F., Benedict, C., Freiherr, J. (2013). Intranasal insulin reduces olfactory sensitivity in normosmic humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98, E1626-1630.
- Butera, P.C. (2010). Estradiol and the control of food intake. *Physiology & Behavior*, 99, 175-180.
- Carey, D.G., Jenkins, A.B., Campbell, L.V., Freund J., Chisholm, D.J. (1996). Abdominal fat and insulin resistance in normal and overweight women. *Diabetes*, 45, 633-638.
- Carvalho, J.B.C., Torsoni, M.A., Ueno, M., Amaral, M.E., Araújo, E.P., Velloso, L.A., Gontijo J.A.R., Saad, M.J.A. (2005). Cross-talk between the insulin and leptin signaling systems in rat hypothalamus. *Obesity Research*, 1, 48-57.
- Chan, M.-Y., Zhao, Y., Heng, C.-K. (2008). Sequential responses to high-fat and high-calorie feeding in an obese mouse model. *Obesity*, 16, 972-978.
- Chavez, M., Riedy, C.A., van Dijk, G., Woods, S.C. (1996). Central insulin and macronutrient intake in the rat. *American Journal of Psychology*, 271, R727-R731.
- Clarke, D.W., Boyd, F.T., Kappy, M.S., Raizada, M.K. (1985). Insulin stimulates macromolecular synthesis in cultured glial cells from rat brain. *American Journal of Physiology*, 249, C484-489.
- Clegg, D.J., Brown, L.M., Woods, S.C., Benoit, S.C. (2006). Gonadal hormones determine sensitivity to central insulin and leptin. *Diabetes*, 55, 978-987.

- Clegg, D.J., Riedy, C.A., Blake Smith, K.A, Benoit, S.C.; Woods, S.C. (2003). Differential sensitivity to central leptin and insulin in male and female rats. *Diabetes*, 52, 682-687.
- Clegg, D.J., Woods, S.C. (2004). The physiology of obesity. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 47, 967-979.
- Daws, L.C., Avison, M.J., Robertson, S.D., Niswender, K.D., Galli, A., Saunders, C. (2011). Insulin signaling and addiction. *Neuropharmacology*, 61, 1123-1128.
- De Castro, J.M. (1987). Circadian rhythms of the spontaneous meal pattern, macronutrient intake, and mood of humans. *Physiology & Behavior*, 40, 437-446.
- De Castro, J.M. (1988). Physiological, environmental, and subjective determinants of food intake in humans: a meal pattern analysis. *Physiology & Behavior*, 44, 651-659.
- De Castro, J.M. (1991). Weekly rhythms of spontaneous nutrient intake and meal pattern of humans. *Physiology & Behavior*, 50, 729-738.
- DRG Diagnostics (2006). Leptin (human) ELISA (EIA - 4304). Deutschland: DRG Instruments GmbH.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2010a). Scientific opinion on dietary reference values for fats, including saturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, monounsaturated fatty acids, trans fatty acids, and cholesterol. *EFSA Journal*, 8, 1461.
- EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (2010b). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 8, 1462.
- Figlewicz, D.P. (2003). Adiposity signals and food reward: expanding the CNS roles of insulin and leptin. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284, R882-R892.
- Figlewicz, D.P., Benoit, S.C. (2009). Insulin, leptin, and food reward: update 2008. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296, R9-R19.
- Foryst-Ludwig, A., Kintscher, U. (2010). Metabolic impact of estrogen signalling through ERalpha und ERbeta. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 122, 74-81.
- Gancheva, S., Koliaki, C., Bierwagen, A., Nowotny, P., Heni, M., Fritsche, A., Häring, H.-U., Szendroedi, J., Roden, M. (2015). Effects of intranasal insulin on hepatic fat accumulation and energy metabolism in humans. *Diabetes*, 64, 1966-1975.

- Gaspard, U. (2009). Hyperinsulinaemia, a key factor of the metabolic syndrome in postmenopausal women. *Maturitas*, 62, 362-365.
- Geer, E.B., Shen, W. (2009). Gender differences in insulin resistance, body composition, and energy balance. *Gender Medicine*, 6, 60-75.
- Geiselman, P.J., Novin, D. (1982). The role of carbohydrates in appetite, hunger and obesity. *Appetite: Journal of Intake Research* 3, 203-223.
- Gekle, M. (2005). Funktion des Magen-Darm-Trakts, Energiehaushalt und Ernährung. In R. Klinke, H.C. Pape, S. Silbernagel (Hrsg.), *Physiologie* (S.407-490), Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Gerozissis, K. (2008). Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and metabolic pathologies. *European Journal of Pharmacology*, 585, 38-49.
- Guthoff, M., Grichisch, Y., Canova, C., Tschritter, O., Veit, R., Hallschmid, M., Häring, H.-U., Preissl, H., Hennige, A.M., Fritsche, A. (2010). Insulin modulates food-related activity in the central nervous system. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95, 748-755.
- Hallschmid, M., Benedict, C., Schultes, B., Born, J., Kern, W. (2008). Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. *International Journal of Obesity*, 32, 275-282.
- Hallschmid, M., Benedict, C., Schultes, B., Fehm, H.-L., Born, J., Kern, W. (2004). Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women. *Diabetes*, 53, 3024-3029.
- Hallschmid, M., Schultes, B. (2009). Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders? *Diabetologia*, 52, 2264-2269.
- Havrankova, J., Schmechel, D., Roth, J., Brownstein, M. (1978). Identification of insulin in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75, 5737-5741.
- Herold, G. (2006). Adipositas. In Herold, G. (Hrsg.), *Innere Medizin* (S. 609-612). Gerd Herold, Köln.
- Hopkins, D.F.C. & Williams, G. (1997). Insulin receptors are widely distributed in human brain and bind human and porcine insulin with equal affinity. *Diabetic Medicine*, 14, 1044-1050.
- Hoyer, S., Prem, L., Sorbi, S., Amaducci, L. (1993). Stimulation of glycolytic key enzymes in cerebral cortex by insulin. *NeuroReport* 4, 991-993.
- Illum, L. (2000). Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system.

- European Journal of Pharmaceutical Sciences, 11, 1-18.
- Illum, L. (2004). Is nose-to-brain transport of drugs in man a reality? *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56, 3-17.
- Iwen, K.A., Scherer, T., Heni, M., Sayk, F., Wellnitz, T., Machleidt, F., Preissl, H., Häring, H.-U., Fritsche, A., Lehnert, H., Buettner, C., Hallschmid, M. (2014). Intranasal Insulin suppresses systemic but not subcutaneous lipolysis in healthy humans. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99, E246-E251.
- Jauch-Chara, K., Friedrich, A., Rezmer, M., Melchert, U.H., Scholand-Engler, H.G., Hallschmid, M., Oltmanns, K.M. (2012). Intranasal insulin suppresses food intake via enhancement of brain energy levels in humans. *Diabetes*, 61, 2261-2268.
- Kaiyala, K.J., Prigeon, R.L., Kahn, S.E., Woods, S.C., Schwartz, M.W. (2000). Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes*, 49, 1525-1533.
- Karhunen, L.J., Juvonen, K.R., Huotari, A., Purhonen, A.K., Herzig, K.H. (2008). Effect of protein, fat, carbohydrate and fibre on gastrointestinal peptide release in humans. *Regulatory Peptides*, 149, 70-78.
- Kern, W., Benedict, C., Schultes, B., Plohr, F., Moser, A., Born, J., Fehm, H.L., Hallschmid, M. (2006). Low cerebrospinal fluid insulin levels in obese humans. *Diabetologia*, 49, 2790-2792
- Ketterer, C, Tschritter, O., Preissl, H., Heni, M., Häring, H.-U., Fritsche, A. (2011a). Insulin sensitivity of the human brain. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 93, 47-51.
- Ketterer, C., Heni, M., Thamer, C., Herzberg-Schäfer, S.A., Häring, H.-U., Fritsche, A. (2011b). Acute, short-term hyperinsulinemia increases olfactory threshold in healthy subjects. *International Journal of Obesity*, 35, 1135-1138.
- Korbmacher, C. & Greger, R. (2005). Von der Zelle zum Organ. In Klinke, R., Pape, H-C. & Silbernagel, S. (Hrsg.), *Physiologie* (S. 56-59). Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Kristensson, K., Olsson, Y. (1971). Uptake of exogenous proteins in mouse olfactory cells. *Acta Neuropathologica*, 19, 145-154.
- Krug, R., Benedict, C., Born, J., Hallschmid, M. (2010). Comparable sensitivity of postmenopausal and young women to the effects of intranasal insulin on food intake and working memory. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95, E468-E472.

- La Fleur, S.E., Serlie, M.J. (2014). The interaction between nutrition and the brain and its consequences for body weight gain and metabolism; studies in rodents and men. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 28, 649-659.
- Leibowitz, S.F. (1992). Neurochemical-neuroendocrine systems in the brain controlling macronutrient intake and metabolism. *Trends in Neurosciences* 15, 491-497.
- Löffler, G., Wiederanders, B. (2003). Bioenergetik und Enzymologie. In Löffler, G. & Petrides, P. E, (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (S.113-114). Springer Medizin Verlag, Heidelberg.
- Lucignani, G., Namba, H., Nehlig, A., Porrino, L.J., Kennedy, C., Sokoloff, L. (1987). Effects of insulin on local cerebral glucose utilization in the rat. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 7, 309-314.
- Mielke, J.G., Taghibiglou, C., Liu, L., Zhang, Y., Jia, Z., Adeli, K., Wang, Y.T. (2005). A biochemical and functional characterization of diet-induced brain insulin resistance. *Journal of Neurochemistry*, 95, 1568-1578.
- Miller, W.C., Lindeman, A.K., Wallace, J., Niederpruem, M. (1990). Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52, 426-430.
- Moran, T.H., Aja, S., Ladenheim, E.E. (2006). Leptin modulation of peripheral controls of meal size. *Physiology & Behavior*, 89, 511-516.
- Morton, G.J., Cummings, D.E., Baskin, D.G., Barsh, G.S., Schwartz, M.W. (2006). Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature*, 443, 289-295.
- Musatov, S., Chen, W., Pfaff, D.W., Mobbs, C.V., Yang, X.-J., Clegg, D.J., Kaplitt, M.G., Ogawa, S. (2007). Silencing of estrogen receptor α in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 2501-2506.
- Myers, M.G., Cowley, M.A., Münzberg, H. (2008). Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annual Review of Physiology*, 70, 537-556.
- Obici, S., Zhang, B.B., Karkanias, G., Rossetti, L. (2002). Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nature Medicine*, 8, 1376-1382.
- Palouzier-Paulignan, B., Lacroix, M.-C., Aime, P., Baly, C., Caillol, M., Congar, P., Julliard, A.K., Tucker, K., Fadool, D.A. (2012). Olfaction under metabolic influence. *Chemical Senses*, 37, 769-797.
- Pérusse, L. Chagnon, Y.C., Weisnagel, S.J., Rankinen, T., Snyder, E., Sands, J.,

- Bouchard, C. (2000). The human obesity gene map: the 2000 update. *Obesity Research*, 9, 135-169.
- Pocai, A., Lam, T.K.T., Gutierrez-Juarez, R., Obici, S., Schwartz, G.J., Bryan, J., Aguilar-Bryan, L., Rossetti, L. (2005). Hypothalamic K_{ATP} channels control hepatic glucose production. *Nature*, 434, 1026-1031.
- Ponchon, M., Lause, P., Maiter (2000). In vitro effects of oestradiol in galanin gene expression in rat anterior pituitary cells. *Journal of Neuroendocrinology*, 12, 559-564.
- Porte Jr., D., Baskin, D.G., Schwartz, M.W. (2002). Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutrition Reviews*, 60, S20-S29.
- Prodi, E., Obici, S. (2006). Minireview: the brain as a molecular target for diabetic therapy. *Endocrinology*, 147, 2664-2669.
- Sánchez-Lasheras, C., Könnner, A.C., Brüning, J.C. (2010). Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31, 4-15.
- Schauseil, S., Kuschak, D. (2006a). Fettgewebe. In A. Nemes, S. Schauseil, M. Kux, A. Gehrt (Hrsg.). *Kompendium Klinische Chemie* (S. 32-35). Düsseldorf, Gemeinschaftspraxis für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie.
- Schauseil, S., Kuschak, D. (2006b). Hormone. In A. Nemes, S. Schauseil, M. Kux, A. Gehrt (Hrsg.). *Kompendium Klinische Chemie* (S. 53-61). Düsseldorf, Gemeinschaftspraxis für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie.
- Scherer, T., Lindtner, C., Zielinski, E., O'Hare, J., Filatova, N., Buettner, C. (2012). Short term voluntary overfeeding disrupts brain insulin control of adipose tissue lipolysis. *Journal of biological chemistry*, 287, 33061-33069.
- Scherer, T., Lehnert, H. Hallschmid, H. (2013). Brain insulin and leptin signaling in metabolic control. *Endocrinology metabolism Clinic of North America*, 42, 109-125.
- Schulinkamp, R.J., Pagano, T.C., Hung, D., Raffa, R.B. (2000). Insulin receptors and insulin action in the brain: review and clinical implication. *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 24, 855-872.
- Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte Jr., D., Seeley, R.J., Baskin, D.G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404, 661-671.
- Seeley, R.J., van Dijk, G., Campfield, L.A., Smith, F.J., Burn, P., Nelligan, J.A., Bell, S.M.,

- Baskin, D.G., Woods, S.C., Schwartz, M.W. (1996). Intraventricular leptin reduces food intake and body weight of lean rats but not obese Zucker rats. *Hormone and Metabolic Research*, 28, 664-668.
- Shefer, G., Macus, Y., Stern, N. (2013). Is obesity a brain disease? *Neuroscience and Behavioral Reviews*, 37, 2489-2503.
- Sheppard, L., Kristal, A.R., Kushi, L.H. (1991). Weight loss in women participating in a randomized trial of low-fat diets. *American Journal of Nutrition*, 54, 821-828.
- Shi, H. & Clegg, D.J. (2009a). Sex differences in the regulation of body weight. *Physiology & Behavior*, 97, 199-204.
- Shi, H., Seeley, R.J., Clegg, D.J. (2009b). Sexual differences in the control of energy homeostasis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30, 396-404.
- Shirayev, T., Chen, H., Morris, M.J. (2009). Differential effects of restricted versus unlimited high-fat feeding in rats on fat mass, plasma hormones and brain appetite regulators. *Journal of Neuroendocrinology*, 21, 602-609.
- Stockhorst, U., Blicke, M., Folly, M., Romanova, D., Scherbaum, W. A. (to be submitted). Differential sensitivity of healthy men and free-cycling women to intranasal insulin: effects on food-intake, metabolic responses, and memory.
- Stockhorst, U., De Fries, D., Steingrueber, H.-J., Scherbaum, W.A. (2011). Unconditioned and conditioned effects of intranasally administered insulin vs placebo in healthy men: a randomised controlled trial. *Diabetologia*, 54, 1502-1506.
- Somogyi, V., Gyorffy, A., Scalise, T.J., Kiss, D.S., Goszleth, G., Bartha, T., Frenyo, V.L., Zsarnovszky, A. (2011). Endocrine factors in the hypothalamic regulation of food intake in females: a review of physiological roles and interactions of ghrelin, leptin, thyroid hormones, oestrogen and insulin. *Nutrition Research Reviews*, 24, 132-154.
- Suter, P.M. (2008). Kohlenhydrate. In Suter, P.M. (Hrsg.), *Checkliste Ernährung* (S. 51-76). Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- Thiebaud, N., Johnson, M.C., Butler, J.L., Bell, G.A., Ferguson, K.L., Fadool, A.R., Fadool, J.C., Gale, A.M., Gale, D.S., Fadool, D.A. (2014). Hyperlipidemic diet causes loss of olfactory sensory neurons, reduces olfactory discrimination, and disrupts odor-reversal learning. *The Journal of Neuroscience*, 34, 6970- 6984.
- Thompson, F.E., Byers, T. (1994). Dietary assessment resource manual. *The Journal of Nutrition*, 124, 2245S-2317S.
- Toeller, M., Buyken, A., Heitkamp, G., Milne, R., Klischan, A., Gries, F.A. (1997). Repeatability

- of three-day dietary records in EURODIAB IODM complications study. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51,74-80.
- Tong, J., Mannea, E., Aime, P., Pfluger, P.T., Yi, C.-X., Castaneda, T.R., Davis, H.W., Ren, X., Pixley, S., Benoit, S., Julliard, K., Woods, S.C., Horvath, T.L., Sleeman, M.M., D'Alessio, D., Obici, S., Frank, R., Tschöp, M.H. (2011). Ghrelin enhances olfactory sensitivity and exploratory sniffing in rodents and humans. *The Journal of Neuroscience*, 31, 5841-5846
- Van Dijk, G., De Groote, C., Chavez, M., Van der Werf, Y., Steffens, A.B., Strubbe, J.H. (1997). Insulin in the arcuate nucleus of the hypothalamus reduces fat consumption in rat. *Brain Research*, 777, 147-152.
- Volkow, N.D., Wang, G.-J., Telang, F., Fowler, J.S., Thanos, P.K., Logan, J., Alexoff, D., Ding, Y.-S., Wong, C., Yeming, M., Pradhan, K. (2008). Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors. *NeuroImage* 42, 1537-1543.
- Walker, P.S., Donovan, J.A., Van Ness, B.G., Fellows, R.E., Pessin, J.E. (1988). Glucose-dependent regulation of glucose transport activity, protein, and mRNA in primary cultures of rat brain glial cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 263, 15594-15601.
- WHO (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series 894, Genf.
- Woods, S.C., Lotter, E.C., McKay, L.D., Porte Jr., D. (1979). Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature*, 282, 503-505.
- Wozniak, M., Rydzewski, B., Baker, S.P., Raizada, M.K. (1993). The cellular and physiological actions of insulin in the central nervous system. *Neurochemistry International*, 22, 1-10.
- Wynne, K., Stanley, S., McGowan, B., Bloom, S. (2005). Appetite control. *Journal of Endocrinology*, 184, 291-318.
- Yang, J.W., Raizada, M.K., Fellows, R.E. (1981). Effects of insulin on cultured rat brain cells: stimulation of ornithine decarboxylase activity. *Journal of Neurochemistry*, 36, 1050-1057.

Anhang

Inhaltsverzeichnis

A01 Probandeninformation zur Studie „Insulin im ZNS“ (Gesamtprojekt DFG STO 323/1-2)	2
A02 Anamnesesitzung	5
A02.1 Anweisung zur Messung des Hüft-Taillen-Umfangs	5
A02.2 Anleitung zur Erstellung eines Zykluskalenders	6
A03 Laborsitzung	9
A03.1 Protokollbogen Hauptversuch	9
A03.2 Protokollbogen zur Messung des Blutzuckerspiegels	10
A03.3 Protokollbogen zur Messung der peripheren Hormonspiegel: Insulin, Leptin, Östrogen	11
A03.4 Probandeninstruktion für die Testmahlzeit	12
A04 Erfassung des Essverhaltens unter natürlichen Bedingungen	13
A04.1 Abfolge der protokollierten Tage	13
A04.2 Probandeninstruktion zum Ausfüllen des Ernährungstagebuchs	14
A04.3 Küchenmaße	17
A04.4 3-Tage Ernährungsprotokoll	20

A01 Probandeninformation zur Studie „Insulin im ZNS“ (Gesamtprojekt DFG STO 323/1-2)

PROBANDENINFORMATION ZUR STUDIE 'INTRANASALE INSULINGABE BEI GESUNDEN'

Allgemeine Information:

Das Hormon Insulin kann nicht nur durch Injektionen, sondern auch über die Nasenschleimhaut verabreicht werden. Dazu liegt bereits eine Reihe von Untersuchungen sowohl an Gesunden als auch an Diabetikern vor. Die Wirkungen von intranasal verabreichtem Insulin, d.h. von Insulin, das über die Nase appliziert wird, sollen auch in dieser Untersuchung an Gesunden geprüft werden. Dazu erhalten Sie entweder Insulin in einer Trägersubstanz oder aber nur die Trägersubstanz. Dabei sollen Stoffwechselprozesse, Symptome, die Nahrungsaufnahme, die Lern- und Gedächtnisfähigkeit und die Aktivität des Gehirns untersucht werden.

Die Untersuchung, an der Sie teilnehmen werden, umfasst zwei Abschnitte:

- Abschnitt 1: eine einmalige Versuchssitzung im Labor und
- Abschnitt 2: eine Längsschnittuntersuchung über 8 Wochen mit einer Nacherhebungsphase.

Abschnitt 1: Akutstudie (Versuchssitzung im Labor)

Es werden Ihnen insgesamt sechsmal sowohl in das linke als auch das rechte Nasenloch 100µl der jeweiligen Substanzen als Nasenspray verabreicht. Diese Gaben in das linke und rechte Nasenloch erfolgen alle 15 Minuten. Es ist wichtig, dass Sie während der Verabreichung des Sprays wie gewöhnlich weiteratmen und jegliches Schniefen oder Aufblähen der Nasenflügel vermeiden, damit die Dosis möglichst vollständig und bei jeder Versuchsperson vergleichbar die Nasenschleimhaut erreicht. Die Zuteilung zu den Untersuchungsbedingungen ('intranasale Gabe von Insulin' oder 'intranasale Gabe nur der Trägersubstanz') erfolgt zufällig und wird Ihnen nicht bekannt gegeben.

Zur Blutzuckerbestimmung und Messung von Hormonen wird Ihnen Blut abgenommen. Dazu ist es notwendig, dass Ihnen vor Versuchsbeginn eine Verweilkanüle (Braunüle) gelegt wird.

Hinweise auf Risiken: Durch die vorgenommene Behandlung können sich Veränderungen des Blutzuckerspiegels, und auch Veränderungen der Ausschüttung körpereigener Botenstoffe (Hormone) ergeben. Weiterhin können Veränderungen in der Befindlichkeit, Veränderungen der Konzentration und der Gedächtnisleistung auftreten. Dabei sind insgesamt sowohl Verbesserungen als auch Verschlechterungen dieser Zustände beschrieben. Wenn Sie sich deutlich beeinträchtigt fühlen, teilen Sie dies bitte umgehend dem medizinischen Personal mit.

Wie oben beschrieben, wird Ihnen vor Versuchsbeginn eine Verweilkanüle gelegt. Im Rahmen der Venenpunktion können in seltenen Fällen lokale Entzündungen auftreten, die in aller Regel unter Behandlung reversibel sind.

Was wird erfasst: Zur Untersuchung der Effekte und zur Kontrolle werden Ihnen mehrfach - in der Regel etwa alle 7 Minuten - kleine Mengen Blut entnommen; in größeren Abständen erfolgen weitere Blutabnahmen. Insgesamt werden pro Labortermin etwa 80 ml entnommen.

Dauer der Untersuchung: Die Laborstudie findet vormittags im Zeitraum zwischen 7.45 Uhr und ca. 12.30 Uhr im Deutschen Diabetes Zentrum statt. Es ist notwendig, dass Sie pünktlich erscheinen.

Was muss ich beachten: Es ist notwendig, dass Sie vor jedem Untersuchungstermin eine 12-stündige Fastenperiode einhalten, auch keine Getränke, ausgenommen Wasser, ungesüßtem Früchtetee (auch kein Süßstoff) konsumiert haben, sowie körperliche Anstrengung vermeiden (kein Sport, keine Anfahrt mit dem Fahrrad). Während der Versuchsreihe dürfen Sie keinen Alkohol trinken (ab Vorabend des Termins). Wir bitten Sie außerdem, auf ausreichenden Schlaf am Vorabend einer jeweiligen Sitzung zu achten.

Außerdem erhalten Sie Nahrungsprotokollbogen: Ab dem Vortag des Versuchstermins füllen Sie bitte einen Nahrungsprotokollbogen aus. Dies erfolgt dann insgesamt über 3 Tage. Tragen Sie bitte alles ein, was Sie an dem jeweiligen Tag essen und trinken (Art und Menge der Speisen und Getränke sowie den jeweiligen Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme). Auf dem Protokollbogen finden Sie die genaue Anleitung (und wir gehen später ein Beispiel durch). Auch im Rahmen der Voruntersuchung sollen Sie ein 3-Tage Ernährungsprotokoll und ein Schlaftagebuch ausfüllen.

Ausschlusskriterien (incl. Sonstige Behandlungen und Medikationen):

Eine Teilnahme an der Untersuchung ist unter den nachfolgend genannten Bedingungen ausgeschlossen:

- Diabetesanamnese (auch familiär: Verwandte 1.Grades)
- Erkrankungen/Deviationen der Nase:
 - Anatomische Deviation des Septums
 - Muschelhyperplasien
 - Polypen
 - Allergische Rhinitis
 - Chronische Rhinitis
 - Neigung zu Nebenhöhlenvereiterungen
 - Akuter Schnupfen, Husten
- Kreislaufprobleme, kardiovaskuläre Erkrankungen
- Neurologische Erkrankungen, insb. Krampfleiden
- Endokrinologische Erkrankungen
- Chronische Erkrankungen der Nieren
- Chronische Erkrankungen der Leber
- Sonstige chronische Erkrankungen
- Anorexie
- Bulimie
- Einnahme von Glukocorticoiden (Cortisonpräparaten)
- Einnahme von Psychopharmaka
- Sucht (Medikamentenabusus, d.h. Medikamentenmissbrauch, oder Alkoholismus)
- Rauchen
- Leistungssport
- Bei Frauen: Einnahme von Kontrazeptiva, Schwangerschaft

Sie verpflichten sich, momentane ärztliche und zahnärztliche Behandlungen - insbesondere die Einnahme von Medikamenten - sowie diagnostische Maßnahmen (auch Impfungen, Blutspenden, Arzneimitteleinnahmen, Diätaufgaben, psychotherapeutische Behandlungen), die Auswirkungen auf Ihren jetzigen körperlichen Zustand haben (könnten), mitzuteilen. In den letzten zwei Wochen vor Beginn der Studie dürfen Sie nicht an Blutspenden teilnehmen und auch während der Studie keine Medikamente einnehmen. Zur Prüfung der Ausschlusskriterien erfolgt eine medizinische Abklärung (Anamnese, körperliche Untersuchung) vor Untersuchungsbeginn, d.h. heute.

Was Sie noch wissen sollten

Die Anwendung von intranasalem Insulin, das bereits in einer Reihe vorangehender Studien benutzt wurde, wurde dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizintechnik, Bonn, vorgelegt und in der Anwendung genehmigt. Es wird für jede Versuchsperson ein Prüfbogen geführt. Der Studienplan wurde der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität vorgelegt. Von Seiten der Ethikkommission bestehen keine Einwände.

Datenschutz:

Zur Gewährung Ihrer Anonymität erhalten Sie eine Identitätsnummer (ID Nr.). Alle für das Untersuchungsanliegen wichtigen Daten (Anamnesedaten, Blutparameter, Fragebogendaten) sind ausschließlich mit dieser ID-Nr. gekennzeichnet. Die für den Untersuchungszeitraum benötigten Angaben zur Person (Name und Telefonnr.) verbleiben beim Leiter der Untersuchung.

Einverständniserklärung und Verlassen der Untersuchung:

Wenn Sie in die Teilnahme der Untersuchung einwilligen, bestätigen Sie dies bitte durch Ihre Unterschrift (Blatt 'Einverständniserklärung'). Falls sich medizinische Indikationen ergeben, wird die Untersuchung sofort beendet. Sie selbst können die Studie jederzeit beenden.

Versuchspersonenhonorar:

Bitte beachten Sie, dass die Daten nur dann für den Untersuchungsleiter dieser Studie verwertbar sind, wenn Sie an allen Sitzungen (Laboruntersuchung, Längsschnitt) teilgenommen und die Dosisangaben eingehalten haben.

Es wird folgende Honorierung vereinbart: Das Honorar beträgt € 450,00 für die Einhaltung aller Termine.

Wir gehen deshalb davon aus, dass nur solche Probanden an der Studie teilnehmen, die auch *alle* Sitzungen absolvieren! Bitte beachten Sie, dass die Zeitplanung auch für den Untersucher aufwendig ist. Versuchsabbruch aus nicht-medizinischen Gründen sollte deshalb nicht vorkommen.

Sie können nach Abschluss der gesamten Versuchsreihe Informationen über Ihre Ergebnisse erhalten.

Eine Probandenversicherung wurde bei der Hampden Insurance NV, vertreten durch den Ecclesia Versicherungsdienst GmbH, Klingenbergstr. 4, 32758 Detmold, unter der Versicherungsnummer 91474-04 abgeschlossen.

Bitte lesen Sie nun die Einverständniserklärung durch.

A02 Anamnese-sitzung

A02.1 Anweisung zur Messung des Hüft-Tailen-Umfangs

Die Messung des Hüft-Tailen-Umfangs und der Ermittlung des Quotienten (Waist-Hip-Ratio) basiert auf den Artikeln von

Tolstrup, J. S., Heitmann, B. L., Tjonneland, A. M., Overvad, O. K., Sorensen, T. I. A. & Gronbaek, M. N. (2005). The relation between drinking pattern and body mass index and waist and hip circumference. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders*, 29, 490-497.

Messung der Waist-Hip-Ratio:

Messung Taillenumfang (waist):

- schmalste Stelle zwischen unterem Rippenbogen und Beckenkamm
- stehend, bei relaxierter Atmung und leichter Kleidung
- auf den nächsten halben Zentimeter genau

Messung Hüfte (hip):

- Breiteste Stelle des Gesäßes
- auf den nächsten halben Zentimeter genau

Bigaard, J., Frederiksen, K., Tjonneland, A., Thomsen, B. L., Overvad, K., Heitmann, B. L. & Sorensen, T. I. A. (2005). Waist circumference and body composition in relation to all-cause mortality in middle-aged men and women. *International Journal of Obesity*, 29, 778-784.

Messung Taillenumfang (waist):

- schmalste Stelle zwischen unterem Rippenbogen und Beckenkamm
- falls schmalste Stelle nicht zu bestimmen, dann in der Mitte zwischen unterem Rippenbogen und Beckenkamm
- auf den nächsten halben Zentimeter genau

Es resultiert folgende Vorgabe für die Messung in unserem Versuch

stehend, bei relaxierter Atmung, ohne Kleidung bzw. dünner Kleidung in diesem Bereich

Messung Taillenumfang (waist): *ohne Kleidung*

- schmalste Stelle zwischen unterem Rippenbogen und Beckenkamm
- falls schmalste Stelle nicht zu bestimmen, dann in der Mitte zwischen unterem Rippenbogen und Beckenkamm
- auf den nächsten halben Zentimeter genau

Messung Hüfte (hip): *in Unterhose*

- Breiteste Stelle des Gesäßes
- auf den nächsten halben Zentimeter genau

A02.2 Anleitung zur Erstellung eines Zykluskalenders

Der weibliche Menstruationszyklus kann aufgrund hormoneller Veränderungen Einfluss auf einige Untersuchungsparameter haben. Daher müssen wir sicherstellen, dass wir genau wissen, in welcher Zyklusphase bzw. an welchem Zyklustag Sie sich jeweils befinden. Deshalb werden Sie gebeten, weiterhin den Zykluskalender zu führen, den Sie bitte *zu den Terminen der Längsschnittuntersuchung* wieder mitbringen.

Hinweise zum Erstellen eines Zykluskalenders:

- Als erster Zyklustag gilt der erste Tag einer Monatsblutung. *Bitte tragen Sie diesen als „Tag 1“ in den Kalender ein und die folgenden Tage als „Tag 2“, „Tag 3“ etc.*
- Bitte tragen Sie das Datum der Akutstudie ein.
- Um eine Vorhersage bezüglich des Zyklusstands treffen zu können, möchten wir Sie bitten,
 - die Angaben mit dem *aktuell laufenden Zyklus* zu beginnen,
 - den Zykluskalender *fortlaufend* bis zum Beginn der Längsschnittstudie zu führen.

Sie erhalten nun zwei Exemplare des Zykluskalenders, von denen eines bei der Versuchsleiterin verbleibt. Bitte tragen Sie *möglichst jetzt* in beide Exemplare Tag 1 des aktuell laufenden Zyklus und Tag 1 des letzten Zyklus ein. Falls Sie diese Angaben jetzt nicht machen können, bitten wir Sie, diese so schnell wie möglich nachzureichen.

Vp.-Nr.: E5hv..... zum Verbleib bei der Studienleiterin

2006

März 06		April 06		Mai 06		Juni 06		Juli 06		August 06	
1		1		1		1		1		1	
2		2		2		2		2		2	
3		3		3		3		3		3	
4		4		4		4		4		4	
5		5		5		5		5		5	
6		6		6		6		6		6	
7		7		7		7		7		7	
8		8		8		8		8		8	
9		9		9		9		9		9	
10		10		10		10		10		10	
11		11		11		11		11		11	
12		12		12		12		12		12	
13		13		13		13		13		13	
14		14		14		14		14		14	
15		15		15		15		15		15	
16		16		16		16		16		16	
17		17		17		17		17		17	
18		18		18		18		18		18	
19		19		19		19		19		19	
20		20		20		20		20		20	
21		21		21		21		21		21	
22		22		22		22		22		22	
23		23		23		23		23		23	
24		24		24		24		24		24	
25		25		25		25		25		25	
26		26		26		26		26		26	
27		27		27		27		27		27	
28		28		28		28		28		28	
		29		29		29		29		29	
		30		30		30		30		30	
		31				31				31	

Vp.-Nr.: E5hv..... zum Verbleib bei der Probandin

2006

März 06		April 06		Mai 06		Juni 06		Juli 06		August 06	
1		1		1		1		1		1	
2		2		2		2		2		2	
3		3		3		3		3		3	
4		4		4		4		4		4	
5		5		5		5		5		5	
6		6		6		6		6		6	
7		7		7		7		7		7	
8		8		8		8		8		8	
9		9		9		9		9		9	
10		10		10		10		10		10	
11		11		11		11		11		11	
12		12		12		12		12		12	
13		13		13		13		13		13	
14		14		14		14		14		14	
15		15		15		15		15		15	
16		16		16		16		16		16	
17		17		17		17		17		17	
18		18		18		18		18		18	
19		19		19		19		19		19	
20		20		20		20		20		20	
21		21		21		21		21		21	
22		22		22		22		22		22	
23		23		23		23		23		23	
24		24		24		24		24		24	
25		25		25		25		25		25	
26		26		26		26		26		26	
27		27		27		27		27		27	
28		28		28		28		28		28	
		29		29		29		29		29	
		30		30		30		30		30	
		31				31				31	

A03 Laborsitzung

A03.1 Protokollbogen Hauptversuch

Protokollbogen Hauptversuch (Akutstudie)		
Datum:	VL:	Liege:
Vp-Nr.:	Anamnese-Nr.:	
Alter: Geb.-Datum:	Größe:	Aktuelles Gewicht:
BMI-Klasse:	Taillenumfang:	Hüftumfang:
Eintreffen Vp:		
Start Versuch:		
Gesundheitlicher Zustand :		
Veränderung seit Anamnese :		
Erkältung, Schnupfen :		
Bei Frauen: Zyklustag :		
Letzte Mahlzeit :	h	
Letztes Getränk :	h	
Art des letzten Getränks :	h	
Weg zum Versuchsraum :		
Sport am heutigen Morgen :		
Zeitpunkt des Zubettgehens :	h	
Zeitpunkt des Einschlafens :	h	
Zeitpunkt des Wachwerdens :	h	
Zeitpunkt des Aufstehens :	h	
Arm für Verweilkanüle :	Braunüle:	
Strecke Nasion-Inion:	Strecke Transversal:	

NASENSPRAY-ABFOLGE (RE,LI) :

Testversion Abfolge (Form A= Museum, B= Theater):

Blutdruck:

Min 2 (Systole: Diastole:) Min 152 (Systole: Diastole:)

Testmahlzeit:	Dauer	:
	Konsumierte Kracker (von 30)	:
	Konsumierte Wurststücke (von 15)	:
	Konsumierte Käsestücke (von 15)	:
	Mineralwasser (von 0.7 l)	:

BESONDERHEITEN WÄHREND DES VERSUCHSABLAUFS

A03.2 Protokollbogen zur Messung des Blutzuckerspiegels

PROBEN HAUPTVERSUCH E5 (PRO VERSUCHSPERSON [VP] 1 SITZUNG MIT U.A. PROBEN)

VP-NR.	:
DATUM	:
VL	:
LABOR	:
MESSUNG (PERSON/UHRZEIT)	:

Glucose (BZ) Kennzeichnung HV# Bz1-Bz16															
Bz1	Bz2	Bz3	Bz4	Bz5	Bz6	Bz7	Bz8	Bz9	Bz10	Bz11	Bz12	Bz13	Bz14	Bz15	Bz16

A03.3 Protokollbogen zur Messung der peripheren Hormonspiegel: Insulin, Leptin, Östrogen

PROBEN HAUPTVERSUCH (PRO VERSUCHSPERSON [VP] EINE SITZUNG MIT U.A. PROBEN)

Es gibt pro Versuchsperson insgesamt 7 Messzeitpunkte (als t1 bis t7) bezeichnet. Pro Messzeitpunkt wird eine Monovette abgefüllt, aus der dann Material für 4 Hormone nach Zentrifugen abpipettiert werden.

Die Monovetten tragen die Vp-Nr., den Messzeitpunkt und das Datum also z. B. E5hv01t1

VP-NR:	GEB.-DATUM:	GESCHLECHT:					
DATUM :							
VL:							
LABOR:							
Messzeitpunkt	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7
Insulin (mU/L)	Ins1	Ins2	Ins3	Ins4	Ins5	Ins6	Ins7
E5hvxx							
Leptin (ng/ml)	Lep1	Lep2	Lep3	Lep4	Lep5	Lep6	Lep7
E5hvxx							
Cortisol (µg/dl)	Cort1	Cort2	Cort3	Cort4	Cort5	Cort6	Cort7
E5hvxx							
Estradiol (pg/ml)	Est1	Est2	Est3	Est4	Est5	Est6	Est7
E5hvxx							

A03.4 Probandeninstruktion für die Testmahlzeit

Sie erhalten nun Snacks mit Wurst und Käse sowie Mineralwasser. Bitte essen und trinken Sie davon soviel, wie Sie im Moment mögen.

Bitte sagen Sie Bescheid, wenn Sie genug gegessen und getrunken haben.

A04 Erfassung des Essverhaltens unter natürlichen Bedingungen

A04.1 Abfolge der protokollierten Tage

Dokumentation Ausfüllen 3-Tage Ernährungsprotokoll im Akutversuch

Die Probanden füllen die Ernährungsbögen wie folgt aus:

Wochentage:

Wochentag 1 : am Versuchstag

Wochentag 2: ein Tag nach dem Versuchstag

(darauffolgender) Sonntag

Falls Versuchstag der Freitag:

Wochentag 1 = am Versuchstag

Sonntag

Wochentag 2 = Montag

A04.2 Probandeninstruktion zum Ausfüllen des Ernährungstagebuchs

ANLEITUNG ZUM AUSFÜLLEN DES 3-TAGE ERNÄHRUNGSPROTOKOLLS***Liebe(r) Untersuchungsteilnehmer(in)!***

Da bestimmte Substanzen und chemische Verbindungen in Nahrungsmitteln und Getränken Einfluss auf den späteren Untersuchungsgegenstand unseres Projekts haben, ist es sehr wichtig, dass wir Ihre Nahrungsaufnahme kennen lernen und Sie diese so exakt wie möglich aufschreiben.

Bitte protokollieren Sie Ihre Nahrungsaufnahme (Mahlzeiten, Zwischenmahlzeiten, Getränke, Extras) an **zwei üblichen Werktagen sowie an einem Sonntag**. In dem Ernährungsprotokoll soll möglichst genau die Art und Menge der Nahrungsaufnahme aufgeschrieben werden. Deshalb soll alles notiert werden, was Sie essen und trinken. Bitte dabei auch an die Dinge denken, die Sie zwischen den Mahlzeiten verzehren.

Wichtig ist, dass Sie alles so wahrheitsgemäß wie möglich angeben. Es geht hier nicht darum eine perfekte Kost zu notieren, sondern Ihre tatsächliche Nahrungsaufnahme zu erfassen.

Bitte behalten Sie Ihre ganz „normale“ Nahrungsaufnahme bei!

Das 3-Tage Ernährungsprotokoll umfasst pro Tag den Zeitraum 0:00 Uhr bis 24:00 Uhr und ist in sechs Spalten (Uhrzeit, Art und Ort, Speisen, Menge der Speisen, Getränke, Menge der Getränke) eingeteilt. Wir möchten wissen,

- wann (Spalte 1: Uhrzeit) Sie
- welche Art der Mahlzeit und wo (Spalte 2) konsumiert haben,
- was und wieviel Sie gegessen (Spalte 3 und 4: Speisen)
- was und wieviel Sie getrunken (Spalte 5 und 6: Getränke) haben.

Bitte nehmen Sie das Tagebuch auch mit, wenn Sie unterwegs sind, damit Sie Ihren Verzehr so präzise wie möglich dokumentieren können.

Spalte 1: Uhrzeit

TRAGEN SIE ZUERST DIE UHRZEIT IHRER NAHRUNGSaufNAHME EIN.

Spalte 2: Art und Ort der Mahlzeit

Bitte markieren Sie Ihr Frühstück als **F**, Ihr Mittagessen als **M** und Ihr Abendessen als **A**. Alle weiteren Mahlzeiten kennzeichnen Sie bitte als Zwischenmahlzeiten **Z**. Die Mahlzeiten, die Sie **außer Haus** (in der Mensa, einem Restaurant, bei einer Einladung) eingenommen haben, markieren Sie in Spalte 2 **zusätzlich** mit einem **X**. Bsp.: MX bedeutet: Sie haben außer Haus zu Mittag gegessen.

Spalten 3-6. Detaillierte Beschreibung der Speisen und Getränke

Benennen Sie Nahrungsmittel und Getränke ganz konkret (Sorte und möglichst Markennamen).

Benennen Sie die Sorte, etwa:

- welches Gemüse (z.B. Möhren oder Rotkohl)
- welchen Salat (z.B. Feldsalat, Tomatensalat)
- welche Suppe (z.B. Spargelsuppe als Beilage oder Erbseneintopf als Hauptgericht)
- welchen Kuchen (z. B. Apfelkuchen, Rosinenschnecke oder Käse-Sahne-Torte)
- welches Getränk (z. B. Apfelsaft, Altbier, Weisswein)

Falls möglich, geben Sie auch den Markennamen an, vor allem bei Fertiggerichten, Süßigkeiten und Getränken:

- z.B. 1 Lasagne, Käfer; 1 Pizza Thunfisch Dr. Oetker, 1 Riegel Bounty, 1 Glas Pepsi Cola

Es ist sehr wichtig, dass Sie genaue Mengenangaben machen und diese in Spalte 4 (bei Speisen) und Spalte 6 (bei Getränken) eintragen. Beschreiben Sie zusätzlich, ob die Angaben für rohe oder gekochte Nahrungsmittel gelten (z.B. bei Reis oder Nudeln). Bei den Mengenangaben nutzen Sie bitte sogenannte Küchenmaße, die wir in der beiliegenden Liste (Küchenmaße I bis III) nennen. Benutzen Sie zur Beschreibung der Mengen immer Adjektive

wie z. B. „klein“, „mittel“, „groß“ oder anschauliche Mengenangaben wie z.B. „eine Hand voll“, so dass wir uns vorstellen können, wie groß die von Ihnen beschriebene Mahlzeit war. Wenn möglich, geben Sie zusätzlich das Gewicht der Nahrungsmittel (in Gramm) nach den Angaben auf der Verpackung an. Auch bei Mensa- oder Restaurant-Essen, benutzen Sie die Küchenmaße. Sollten Sie ausnahmsweise eine Mengenangabe nicht in den Küchenmaßen finden, machen Sie Ihre Angabe als „Mehrfaches“ der vorgegebenen Mengeneinheiten: Ist zum Beispiel Ihre Tasse größer (500 ml) als die maximale Mengenangabe, schreiben Sie `2 x 2 große Tassen`.

Benennen Sie den Fettgehalt, Zubereitungsform und Zuckergehalt der Speisen und Getränke:

So ist anzugeben,

- welchen Fettgehalt (in %) Käse, Wurst, Joghurt- und Quarkprodukten, Saucen (auch Salatsaucen) und Getränke wie Milch, Buttermilch, „Frühstücksdrinks“ etc. haben,
- ob z.B. das Fleisch fett oder mager war, gegrillt oder paniert wurde,
- ob Saucen mit oder ohne Sahne zubereitet waren und
- ob der Salat oder das Gemüse mit Fett (Joghurtdressing, Öl, Butter, Rahmsauce) zubereitet wurde.

Angaben auch von kalorienfreier Nahrung

Geben Sie auch kalorienfreie Produkte an: z. B. 1 kleines Glas Mineralwasser; 1 große Tasse schwarzer Kaffee; 1 kleiner Becher schwarzer Tee mit Süßstoff.

Sie erhalten nun einen **Beispielbogen mit sogenannten Küchenmaßen**, den wir gemeinsam durchgehen.

Melden Sie sich bei Rückfragen

unter

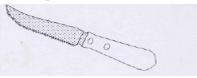
0211 8113319 oder

maren.blicke@uni-duesseldorf.de

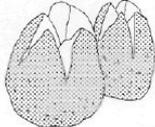
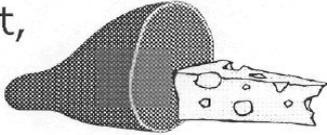
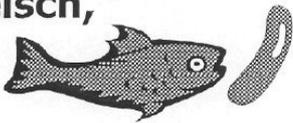
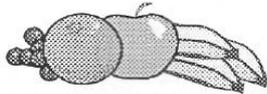
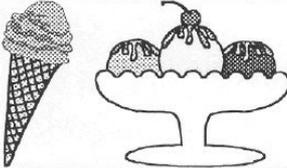
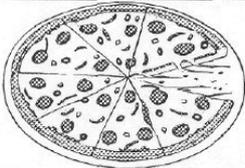
Dipl.-Psych. Maren Blicke
Institut für Medizinische Psychologie
Gebäude 23.02, Ebene 03, Raum 52
Heinrich-Heine –Universität Düsseldorf
Universitätsstrasse 1
40225 Düsseldorf

A04.3 Küchenmaße

Küchenmaße I

Tasse (z.B. Milch, Suppe...)		<u>sehr klein</u> <u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 40-50 ml ca. 100 ml ca. 150-200 ml ca. 250-300 ml
Glas (z.B. Saft, Wein, Bier...)		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 60-100 ml ca. 150-250 ml ca. 300-600 ml
Schälchen (z.B. Kompott, Pudding, Suppe, Pommes frites)		<u>sehr klein</u> <u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 50 g ca. 100 g ca. 150 g ca. 200-300 g
Teller (z.B. Lasagne...)		<u>klein</u> <u>groß</u>	ca. 100-150 g ca. 200-300 g
Löffel gestrichen (z.B. Nudeln, Reis, Öl, Konfitüre, Zucker Soße...)		<u>sehr klein</u> <u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 3 g ca. 5-6 g ca. 10-15 g ca. 20-30 g
Scheibe (Stück) Brot		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 20-30 g ca. 35-50g ca. 60-80g
Messerspitze (z.B. Butter, Margarine, Marmelade, Nussnougatcreme, Frischkäse...)		<u>1 Messerspitze</u> <u>2 Messerspitzen</u> <u>3 Messerspitzen</u> <u>oder mehr</u>	ca. 5 g ca. 10 g ca. 15 g

Küchenmaße II

Brötchen		<u>klein</u> <u>groß</u>	ca. 30-40 g ca. 50-70 g
Stück (Scheibe) Aufschnitt (z.B. Wurst, Schinken, Käse)		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 15-20 g ca. 50 g ca. 60-100 g
Portion Fleisch, Fisch, Wurst		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 50-80 g ca. 100-150 g ca. 200-300 g
Portion Gemüse, Salat		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 100 g ca. 200 g ca. 300 g
Stück (Portion) Obst		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 100 g ca. 150 g ca. 200 g
Portion Eis		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 50 g ca. 100 g ca. 200 g
Stück Kuchen		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 15-25 g ca. 100 g ca. 200 g
Stück Pizza		<u>klein</u> <u>mittel</u> <u>groß</u>	ca. 160 g ca. 300 g ca. 500-600 g

Küchenmaße III

Stück

(z.B. Bonbon, Kaugummi, Kekse,
Pralinen, Schokoriegel, Schokolade...)



1 Stück

2 Stück oder mehr

Eine Hand voll

(z.B. Chips, Nüsse, Gummibärchen...)

1 kleine Hand voll

2 kleine Hände voll

3 und mehr kleine
Hände voll

Becher

(z.B. Joghurt, Milchreis, Pudding)

sehr klein

ca. 100-149 g

klein

ca. 150-249 g

mittel

ca. 250-499 g

groß

ca. 500 g

A04.4 3-Tage Ernährungsprotokoll

3-Tage Ernährungsprotokoll

Vom2006 bis2006

Vp-Nr.:

Alter:

Geschlecht: m w

Vegetarier: ja nein

Abgabe am:

Vp-Nr.:

Wochentag 1 (Versuchstermin):

Datum:

Uhrzeit 0:00 bis 24.00	Mahlzeiten (F, M, A, Z), ggf. mit X ergänzen	Genauere Beschreibung der Speisen	Menge der Speisen (s. Küchenmaße)	Genauere Beschreibung der Getränke	Menge der Getränke (s. Küchenmaße)

X: außer Haus

Vp-Nr.:

Wochentag 2:

Datum:

Uhrzeit 0:00 bis 24.00	Mahlzeiten (F, M, A, Z), ggf. mit X ergänzen	Genauere Beschreibung der Speisen	Menge der Speisen (s. Küchenmaße)	Genauere Beschreibung der Getränke	Menge der Getränke (s. Küchenmaße)

X: außer Haus

Vp-Nr.:

Wochentag 2:

Datum:

Uhrzeit 0:00 bis 24.00	Mahlzeiten (F, M, A, Z), ggf. mit X ergänzen	Genauere Beschreibung der Speisen	Menge der Speisen (s. Küchenmaße)	Genauere Beschreibung der Getränke	Menge der Getränke (s. Küchenmaße)

X: außer Haus

Vp-Nr.:

Sonntag:

Datum:

Uhrzeit 0:00 bis 24.00	Mahlzeiten (F, M, A, Z), ggf. mit X ergänzen	Genauere Beschreibung der Speisen	Menge der Speisen (s. Küchenmaße)	Genauere Beschreibung der Getränke	Menge der Getränke (s. Küchenmaße)

X: außer Haus

Vp-Nr.:

Sonntag:

Datum:

Uhrzeit 0:00 bis 24.00	Mahlzeiten (F, M, A, Z), ggf. mit X ergänzen	Genauere Beschreibung der Speisen	Menge der Speisen (s. Küchenmaße)	Genauere Beschreibung der Getränke	Menge der Getränke (s. Küchenmaße)

X: außer Haus

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a series of loops and a long horizontal stroke.

27.11.2015, Stephanie Löhr

