

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

**Langfristige Effekte von intranasalem Insulin auf  
Blutzucker, Insulin, Östradiol, Gedächtnis und  
Befindlichkeit bei Gesunden**

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

**vorgelegt von Magdalena Safia Khamis  
(2022)**



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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Prof. Dr. Ursula Stockhorst

Zweitgutachter: Prof. Dr. Matthias Schott

# Zusammenfassung

**Hintergrund** Insulinrezeptoren finden sich in hoher Dichte in verschiedenen Arealen des zentralen Nervensystems (u.a. Bulbus olfactorius, Hypothalamus, Hippocampus, Amygdala, zerebraler Cortex). Dies ist übereinstimmend mit tier- und auch humanexperimentellen Befunden, wonach zentrales Insulin Parameter wie Nahrungsaufnahme und Körpergewicht beeinflusst, aber auch gedächtnisfördernde Effekte und einen positiven Effekt auf Emotionen und Befindlichkeit hat. Die intranasale Applikation bietet die Möglichkeit, beim Menschen Effekte zentral wirksamen Insulins unter Beibehaltung einer Euglykämie zu untersuchen. Dabei wurden bisher hauptsächlich Effekte der *akuten Gabe* von intranasalem Insulin untersucht. In der vorliegenden Dissertation lag der Fokus auf *langfristigen Effekten* intranasal verabreichten Insulins auf deklaratives Gedächtnis, Befindlichkeit, Blutzucker, peripheres Insulin und Östradiol. Die Daten wurden im Rahmen eines DFG-Projekts (DFG STO 323/1-2) erhoben. **Methode** Die Längsschnittstudie umfasste 16 Wochen, unterteilt in eine 8-wöchige Treatmentphase mit experimenteller Variation der verabreichten Substanz in den Stufen Insulin vs. Placebo - mit Gabe von dreimal täglich intranasalem Insulin (Humaninsulin U100, Insulin Insuman Rapid® Hoechst mit m-Cresol 20 IE/Applikation) oder geruchsidentischem Placebo (Verdünnungspuffer HOE 31 mit m-Cresol; 0.2 ml/Applikation). Daran schloss sich eine 8-wöchige Follow-up Phase an (zur Untersuchung der Stabilität der Effekte und explorativen Untersuchung möglicher Konditionierungseffekte). Hier sprühte je die Hälfte der Probanden [Pbn] Placebo weiter, oder erhielt kein Nasenspray; das Sprühen und der Geruch des Placebos sollten bei den Insulin behandelten Pbn als konditionierter Stimulus wirken. Die Zuteilung der je 22 gesunden männlichen und weiblichen Pbn (sämtlich Studierende, 18-35 Jahre) auf die Substanzbedingung erfolgte randomisiert. Ein besonderer Fokus lag auf der differentiellen Sensitivität der Insulineffekte bei Männern vs. Frauen, wobei ausschließlich freizyklierende Frauen untersucht wurden. Als abhängige Variablen dienten Indikatoren der deklarativen Gedächtnisleistung (Untertests des Lern- und Gedächtnistests von Bäumlner [1974] und des visuellen und verbalen Merkfähigkeitstest [VVM] von Schellig und Schächtele [2001]), Befindlichkeit (Eigenschaftswörterliste [EWL 60-S] nach Janke und Debus [1983]), Blutzucker, peripheres Insulin und Östradiol. Im Rahmen explorativer Zusatzanalysen wurden die Gedächtnisleistung und die Befindlichkeit (pro Woche einmal im Labor erhoben) mit den peripheren Insulin- und Östradiolspiegeln korreliert. **Ergebnisse** Bei der Gedächtnisleistung zeigte sich - entgegen der Erwartung - keine statistisch relevante bessere Leistung der Insulin- vs. Placebogabe. Bei getrennter Betrachtung nach Geschlecht zeigte sich bei den Frauen richtungsmäßig eine bessere Leistung in Testungen des figuralen Gedächtnisses (einmalig am Ende des Treatments und in den

zusammengefassten Follow-up Erhebungen). Blutzucker und peripheres Insulin zeigten keine Unterschiede zwischen intranasaler Insulin- vs. Placebogabe. Im peripheren Östradiol bei den Männern erreichte die Insulin behandelte Gruppe in zwei Einzelwochen einen höheren Östradiol-Anstieg (relativ zur Baseline in Woche 1) verglichen mit der Placebogruppe. In den positiven Befindlichkeitsdimensionen wurde eine Verbesserung der Insulin behandelten Pbn deutlich, dies vor allem nach längerer regelmäßiger Insulinapplikation (Wochen 6-9 und im Follow-up). Dabei manifestieren sich die Effekte mit geschlechtsspezifisch unterschiedlicher Sensitivität, nämlich für Frauen in den Dimensionen „Leistungsbezogene Aktivität“ und „Allgemeines Wohlbefinden“, und für Männer in der Dimension „Extra-/Introversion“. Es gibt Hinweise auf klassisch konditionierte Effekte von Insulin - im Sinne einer besseren Befindlichkeit im Follow-up (bei allen positiven Befindlichkeitsdimensionen für Gesamtgruppe, bei Frauen für „Leistungsbezogene Aktivität“ und „Allgemeines Wohlbefinden“ und bei den negativen Befindlichkeitsdimensionen „Emotionale Gereiztheit“ und „Angst“ für Männer). **Schlussfolgerungen** Insgesamt zeigen die erhobenen Daten vor allem eine Befindlichkeitsverbesserung nach intranasaler Insulingabe, besonders nach längerfristiger Applikation. Eine geschlechtsspezifisch unterschiedliche Sensitivität wurde in einzelnen Befindlichkeitsdimensionen festgestellt. Ob diese Effekte auch für therapeutische Zwecke bei verschiedenen Erkrankungen (z.B. Depression) genutzt werden können, gilt es in Folgestudien zu untersuchen.

**Schlüsselworte:** Zentral wirksames Insulin, intranasales Insulin, Gedächtnis, Befindlichkeit, endokrine Parameter

# Abstract

**Background** Insulin receptors are found in high density in different areas of the central nervous system (olfactory bulb, hypothalamus, hippocampus, amygdala, cerebral cortex). This is consistent with animal and human experiments, showing that central insulin influences food intake and body weight, has memory-improving effects and a positive effect on emotions and well-being. Intranasal administration offers the possibility of investigating the effects of centrally acting insulin in humans while maintaining euglycemia. Up to now, the effects of the *acute* administration of intranasal insulin have been mainly investigated. In this thesis, the focus was on the *long-term effects of intranasally administered insulin* on declarative memory, mood, blood sugar, peripheral insulin and estradiol. The data were collected as part of a DFG project (DFG STO 323/1-2). **Research design and methods** The longitudinal study took 16 weeks, divided into an 8-week treatment phase with experimental variation of the administered substance insulin vs. placebo - with administration of intranasal insulin three times per day (Humaninsulin U100, Insulin Insuman Rapid® Hoechst with m-Cresol 20 IU/application) or placebo with identical smell (dilution buffer HOE 31 with m-Cresol; 0.2 ml/application). That was followed by an 8-week follow-up (to investigate the stability of the effects and exploratory investigation of possible conditioning effects). In the follow-up, half of the subjects of each group sprayed placebo, the others did no longer receive a nasal spray: the spray and the smell of the placebo intended to act as a conditioned stimulus in the insulin-treated subjects. The allocation of the 22 healthy male and 22 female subjects (all students, 18-35 years) to the substance condition was randomized. A particular focus was on the differential sensitivity of insulin effects in men vs. women, therefore only free-cycling women were examined. The dependent variables were indicators of declarative memory performance (subtests of the memory test LGT-3 by Bäumlér [1974] and the visual and verbal memory test [VVM] by Schellig & Schächtele [2001]), mood (adjective list [EWL 60-S] according Janke and Debus [1983]), blood sugar, peripheral insulin and estradiol. In additional exploratory analyses, memory performance and mood (recorded once a week in the laboratory) were correlated with peripheral insulin and estradiol levels, respectively. **Results** Contrary to expectations, there was no statistically relevant improvement of memory of the insulin- vs. placebo-treated subjects. When analyzed separately by gender, women showed first hints of better performance in tests of figural memory (once at the end of the treatment-phase and in follow-up measurements). Blood glucose and peripheral insulin showed no differences between intranasal insulin and placebo administration. The insulin-treated group of men achieved a higher estradiol increase (relative to the baseline measurement) in two single weeks compared to the placebo group. In the positive

dimensions of mood, an improvement in the insulin-treated subjects was observed, especially after longer insulin application (weeks 6-9 and in the follow-up). Effects manifested differentially in women and men with insulin-treated women showing improvement in the dimensions "performance-related activity" and "general well-being" while insulin- vs. placebo treated men differed in the dimension "extra/introversion". There is evidence of classically conditioned effects of insulin in terms of better mood in the follow-up (in the positive mood dimensions for the entire group, for women in the dimensions "performance-related activity" and "general well-being", and in "emotional petulance" and "anxiety" for men). **Conclusion** Overall, data show an improvement in mood after intranasal administration of insulin, especially after long-term administration. A gender-specific difference in sensitivity was found in single dimensions of mood. Whether these effects can also be used for therapeutic purposes in various diseases (e.g. depression) needs to be investigated in follow-up studies.

**Key words:** Central insulin, intranasal insulin, memory, mood, endocrine parameters

# Verzeichnis der fachspezifischen Abkürzungen

AD	Alzheimer-Demenz
AMPA	<i>engl.</i> : $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor
ATP	Adenosintriphosphat
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	Body Mass Index
CSF	<i>engl.</i> : Cerebrospinal fluid ( <i>dt.</i> : Zerebrospinalflüssigkeit)
CS	konditionierter Stimulus
DMN	<i>engl.</i> : Default mode network
E1	<i>engl.</i> : Estrone ( <i>dt.</i> ; Östron)
E2	<i>engl.</i> : 17 $\beta$ -estradiol ( <i>dt.</i> : 17 $\beta$ -Östradiol)
E3	<i>engl.</i> : Estriol ( <i>dt.</i> : Östriol)
E4	<i>engl.</i> : Estetrol ( <i>dt.</i> : Östetrol)
ER	<i>engl.</i> : Estradiolreceptor ( <i>dt.</i> : Östradiolrezeptor)
ERK	<i>engl.</i> : Extracellular signal-regulated kinase
EWL	Eigenschaftswörterliste
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
GABA	$\gamma$ -Amino-Buttersäure
GLUT	Glukosetransporter
icv	intracerebroventrikulär
IGF	<i>engl.</i> : Insulin-like growth factor
IE	internationale Einheit
IR	Insulinrezeptor
IRS	<i>engl.</i> : Insulin receptor substrates
i.v.	intravenös
LH	Luteinisierendes Hormon
LPS	Lipopolysaccharid
LTP	Langzeitpotenzierung
LTD	Langzeitdepression
MAO	Monoaminoxidase
MAPK	<i>engl.</i> : Mitogen-activated protein kinase
MCI	<i>engl.</i> : Mild cognitive impairment (leichte kognitive Störung)
MEG	Magnetenzephalographie

MEIA	Mikropartikel-Enzymimmunoassay
MetS	metabolisches Syndrom
mRNA	<i>engl.:</i> Messenger ribonucleid acids
NMDA	N-Methyl-D-Aspartat
NS	natürlicher Stimulus
Pbn	Proband/in, Probanden/Probandinnen
PET	Positronenemissionstomographie
PI3	Phosphoinositid-3-Kinase
STZ	Streptozotozin
T2D	Typ 2 Diabetes mellitus
UT	Untertest
US	unkonditionierter Stimulus
WHO	World Health Organization
WHR	<i>engl.:</i> Waist-hip-ratio
zf.	zusammenfassend
ZNS	Zentrales Nervensystem

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Allgemeine Einführung in den Untersuchungsbereich	1
1.2	Insulin und Insulinrezeptoren im Zentralen Nervensystem	3
1.2.1	Vorkommen der IR	3
1.2.2	Aufbau und Wirkprofil zentraler IR	4
1.3	Insulintransport ins Zentrale Nervensystem	4
1.4	Zentrale Insulineffekte auf Nahrungsaufnahme und Körpergewicht	6
1.5	Effekte zentralen Insulins auf Gedächtnis und kognitive Fähigkeiten	7
1.5.1	Tierexperimentelle Daten	8
1.5.2	Humanexperimentelle Daten bei Gesunden	9
1.5.2.1	Akute Insulineffekte bei Gesunden	10
1.5.2.2	Langzeiteffekte bei Gesunden	11
1.5.3	Geschlechtsunterschiede in den Gedächtniseffekten	11
1.5.4	Humanexperimentelle Daten bei klinischen Gruppen	13
1.5.5	Komorbidität von Diabetes und Alzheimer-Demenz	15
1.6	Zentrales Insulin und Effekte auf die peripheren Insulin- und Blutzuckerspiegel	16
1.7	Zentrales Insulin und Befindlichkeit	17
1.7.1	Tierexperimentelle Daten	17
1.7.2	Humanexperimentelle Daten	19
1.8	Östradiol: Gedächtnis und Befindlichkeit	20
1.9	Klassische Konditionierung von Insulineffekten	23
1.10	Fragestellungen und Hypothesen	24
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>29</b>
2.1	Versuchsplan und (quasi-) unabhängige Variablen	29
2.2	Abhängige Variablen	31
2.2.1	Deklaratives Gedächtnis	31
2.2.2	Blutzucker und Endokrine Parameter	34
2.2.3	Subjektive Parameter	35
2.3	Versuchsablauf	37
2.3.1	Anamnese	37
2.3.2	Akutstudie	38
2.3.3	Einführung/Probeweche für die Längsschnittstudie	38
2.3.4	Längsschnitt	39
2.3.4.1	Erfassung im Labor	39
2.3.4.2	Erfassung zu Hause	42
2.4	Örtliche, räumliche und zeitliche Durchführungsbedingung	44
2.5	Versuchsaufbau	44
2.6	Versuchsleiter	44
2.7	Auswertung	45
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>49</b>
3.1	Gedächtnis	49

3.1.1	Gedächtnisleistung Insulin vs. Placebo: Gesamtgruppe.....	49
3.1.2	Gedächtnisleistung getrennt für männliche und weibliche Versuchsteilnehmer .....	50
3.1.3	Zeitpunkt der Insulinapplikation und Auswirkungen auf die Gedächtnisleistung (zusätzliche akute vs. ausschließlich kumulierte Insulineffekte): Explorative Analysen.....	51
3.1.4	Korrelation zwischen Gedächtnisleistung und peripheren Hormonspiegeln: Explorative Analysen.....	53
3.2	Blutzucker.....	60
3.3	Periphere Hormonspiegel (Insulin/Östradiol).....	61
3.3.1	Insulin .....	61
3.3.2	Östradiol .....	63
3.4	Befindlichkeit .....	65
3.4.1	Befindlichkeit Insulin vs. Placebo: Gesamtgruppe und gesonderte Betrachtung nach Geschlecht .....	65
3.4.2	Korrelation zwischen Befindlichkeit und peripheren Hormonspiegeln: Explorative Zusatzanalysen .....	83
<b>4</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>92</b>
4.1	Gedächtnis .....	92
4.2	Blutzucker und periphere Hormone (Insulin/Östradiol).....	98
4.3	Befindlichkeit .....	101
4.4	Klinische Forschungsperspektiven.....	105
4.5	Limitationen .....	107
4.6	Schlussfolgerungen .....	108
	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>110</b>
	<b>Anhang: Versuchsunterlagen.....</b>	<b>A1</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Allgemeine Einführung in den Untersuchungsbereich

*Insulin und Insulinrezeptoren im Zentralen Nervensystem* (siehe auch 1.2): Das Pankreashormon Insulin war lange vor allem für seine peripheren Effekte bei der Stoffwechselregulierung bekannt. Allerdings wurden bereits um 1980 auch im zentralen Nervensystem (ZNS) von Ratten (Havrankova, Roth & Brownstein, 1978) und später bei Menschen (Hopkins & Williams, 1997; Zhao, Chen, Quon & Alkon 2004; Reger & Craft, 2006) Insulinrezeptoren (IR) entdeckt. Die komplexen zentralnervösen Abläufe, an denen Insulin beteiligt ist, sind noch nicht vollständig geklärt. Diese Arbeit wird zunächst einen Überblick über den aktuellen Forschungsstand der zentralen Wirkung von Insulin geben.

*Insulintransport ins ZNS* (siehe auch 1.3): Eine hervorragende experimentelle Möglichkeit zur Untersuchung zentraler Insulineffekte bietet die intranasale Applikationsart: Dabei können Stoffe unter Umgehung des Blutkreislaufs direkt ins ZNS gelangen (u. a. Born, Lange, Kern, McGregor, Bickel & Fehm, 2002).

*Nahrungsaufnahme und Gewicht* (siehe auch 1.4): Aus zahlreichen Studien ergibt sich, dass Insulin im Hypothalamus eine Schlüsselrolle bei der Regulation von Nahrungsaufnahme und Körpergewicht im Tier- als auch im Humanbereich übernimmt (u.a.: Woods et al. 1985; Gerzissis 2003; Kleinridders, Ferris, Cai & Kahn, 2015): es führt (sofern eine periphere Euglykämie vorliegt) zu einer reduzierten Nahrungsaufnahme und bei langfristiger Gabe zu einer Abnahme des Körpergewichtes (u.a. Air, Benoit, Blake Smith, Clegg & Woods, 2002; Hallschmid, Benedict, Schultes, Fehm, Born & Kern, 2004), weist also katabole statt der peripheren anabolen Funktion auf. Dabei fand sich eine differentielle Sensitivität nach Geschlecht: In das ZNS verabreichtes Insulin führte bei männlichen Ratten zu einer Abnahme des Körpergewichtes, bei weiblichen Ratten hingegen führte das Hormon Leptin zu diesem Effekt (Clegg, Riedy, Smith, Benoit & Woods, 2003).

*Effekte zentralen Insulins auf Gedächtnis und kognitive Fähigkeiten* (siehe auch 1.5): Ein besonderer Fokus der vorliegenden Dissertation liegt in der Untersuchung der zentralnervösen Effekte von Insulin auf Lernen und deklaratives Gedächtnis: Es liegen mittlerweile diverse Studien vor, die bestätigen, dass die Gabe von Insulin zu einer verbesserten Gedächtnisleistung führt (zf. u.a. Shemesh, Rudich, Harman-Boehm & Cukierman-Yaffe, 2012). Im Tierversuch

sind die positiven Lerneffekte sowohl nach einmaliger Gabe (u.a. Park, Seeley, Craft & Woods, 2000; Babri, Badie, Khamenei & Seyedlar, 2007; Stern, Chen & Alberini, 2014) als auch nach längerfristiger Gabe (Adzovic et al., 2015) nachweisbar. Kongruent hierzu führt die experimentelle selektive Inaktivierung zentraler IR zu Gedächtnisdefiziten (u.a. Grünblatt, Salkovic-Petrisic, Osmanovic, Riederer & Hoyer, 2007; Grillo et al., 2015 [siehe 1.5.1]). Auch bei gesunden Menschen können positive Gedächtniseffekte nach einmaliger intranasaler Insulingabe (u. a. Kern, Peters, Fruehwald-Schultes, Deininger, Born & Fehm, 2001; Brünner, Kofoet, Benedict & Freiherr, 2015) und nach längerfristiger Insulingabe (u.a. Benedict et al., 2004; Hallschmid, Benedict, Schultes, Born & Kern et al., 2008) nachgewiesen werden (siehe 1.5.2). Hier konnte gezeigt werden, dass Männer und Frauen bei verschiedenen Gedächtnistests unterschiedlich gute Ergebnisse erzielten (Benedict, Kern, Schultes, Born & Hallschmid, 2008), was eine differentielle Sensitivität für intranasales Insulin bei Männern und Frauen vermuten lässt (1.5.3). In der vorliegenden Studie werden dabei – im Unterschied zu den oben genannten Studien – nur freizyklierende Frauen untersucht, die also keine hormonellen Kontrazeptiva verwenden.

Eine besondere klinische Relevanz der positiven Insulinwirkung auf Lernen und Gedächtnis ergibt sich für die neurodegenerative Alzheimer-Demenz (AD): Bei der Pathogenese der Erkrankung spielt die neuronale Insulinresistenz eine entscheidende Rolle (de la Monte & Wands, 2005). Durch intranasale Insulingabe konnte in ersten Studien eine Verbesserung der Gedächtnisleistung bei Patienten mit AD festgestellt werden (Reger et al. 2008). Deshalb ist diese Insulinverabreichung in Hinblick auf einen therapeutischen Nutzen ein wichtiger Forschungsbereich (siehe 1.5.4).

*Effekte zentralen Insulins auf Blutzucker (BZ) und periphere Hormonspiegel* (siehe auch 1.6): Im Humanexperiment konnte nachgewiesen werden, dass zentral wirksames Insulin auch zu Veränderungen der peripheren BZ- und Insulinspiegels führt: dabei führt intranasales Insulin – so die Annahme - über vagal medierte Prozesse zu einer Insulinsekretion aus dem Pankreas und dadurch zum Abfall des BZ unter Beibehaltung einer Euglykämie (Stockhorst, de Fries, Steingrüber & Scherbaum, 2004; Stockhorst, de Fries, Steingrüber & Scherbaum, 2011a).

*Effekte zentralen Insulins auf Befindlichkeit* (siehe auch 1.7): Die Lokalisation von IR in der Amygdala legt die Annahme nahe, dass zentral wirksames Insulin auch motivationale und emotionale Prozesse beeinflusst. Im Rahmen von Tierversuchen konnten in verschiedenen Versuchsanordnungen anxiolytische Effekte von zentral wirksamem Insulin und Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) bei Nagetieren festgestellt werden (Marks, Tucker, Cavallin, Mast & Fadool, 2009; Baldini et al., 2013). Kongruent hiermit ist, dass die selektive Downregulation zentraler IR zu einem zunehmend ängstlichen und Depressions-ähnlichen Verhalten führt (Grillo, Piroli, Kaigler, Wilson, Wilson & Reagan, 2011; Kleinriders et al., 2015). In ersten

humanexperimentellen Studien wird deutlich, dass die intranasale Insulingabe bei Gesunden einen positiven Einfluss auf einzelne Indikatoren der Befindlichkeit hat, sowohl nach akuter als auch nach längerfristiger Gabe (Kern, Born, Schreiber & Fehm, 1999; Benedict et al., 2004; Hallschmid et al., 2008).

In der vorliegenden Dissertation werden die Langzeiteffekte von intranasal verabreichtem Insulin (inklusive einer Follow-up Phase ohne Insulinapplikation) auf Gedächtnisleistung, BZ, periphere Hormone (Insulin und Östradiol) und Befindlichkeit bei gesunden männlichen und weiblichen Probanden/Probandinnen (Pbn) untersucht. Dabei werden ausschließlich Frauen im reproduktiven Alter untersucht, die keine hormonelle Kontrazeption einnahmen. Es liegt bisher keine vergleichbare Studie vor.

## 1.2 Insulin und Insulinrezeptoren im Zentralen Nervensystem

Insulin spielt als peripher wirksames Hormon eine wesentliche Rolle im Glukosestoffwechsel. Im Laufe der Jahre, beginnend mit dem Nachweis von IR im ZNS, hat sich allerdings das Wissen etabliert, dass Insulin auch im ZNS an verschiedenen Prozessen beteiligt ist, die über die Energiehomöostase hinausgehen (zf. u.a. Kullmann, Heni, Hallschmid, Fritsche, Preissl & Häring, 2016; Lee, Zabolotny, Huang, Lee & Kim, 2016; Shemesh et al., 2011). Nachfolgend wird ein Überblick über die Gehirnregionen gegeben, in denen sich Insulin und IR in besonders hoher Dichte befinden sowie das Wirkprofil zentral wirksamen Insulins genauer beschrieben.

### 1.2.1 Vorkommen der IR

Um 1980 wurde zunächst bei Tieren (Storlien, Bellingham & Martin 1975, Havrankova et al., 1978; van Houten, Posner, Kopriwa & Brawer 1980; Baskin, Porte, Guest, & Dorsa, 1983), später auch bei Menschen (Hopkins & Williams, 1997) das Vorhandensein von Insulin und IR im ZNS beschrieben. IR finden sich in den Synapsen von Neuronen und Astrozyten in allen Teilen des ZNS (Reger & Craft 2006; Zhao et al., 2004), besonders im Hypothalamus (speziell im Nucleus arcuatus). Insulineinwirkungen führen dort zu einer Beeinflussung von Metabolismus und Körpergewicht (u.a. Baskin, Marks, Schwartz, Figlewicz, Woods & Porte, 1993; Schwartz, Woods, Porte, Seeley & Baskin, 2000). Eine hohe IR-Dichte befindet sich auch im Bulbus olfactorius (Havrankova et al., 1978), auf den primären olfaktorischen Neuronen und Mitralzellen (zf. Palouzier-Paulignan et al., 2012). Die ebenfalls hohe Dichte von IR in den Strukturen des limbischen Systems (eingeschlossen Hippocampus, pyriformer Cortex und Amygdala) ist bedeutsam für Insulineffekte auf höhere kognitive Funktionen, insbesondere

Lernen und Gedächtnis sowie Befindlichkeit (zf. Ferrario & Reagan, 2018; Shemesh et al., 2011). Hinzu kommen Strukturen aus dem mesolimbischen System (wie das ventrale tegmentale Areal mit dem ventralen Striatum). Anhand der Daten bildgebender Studien (mittels Magnetenzephalographie [MEG] und funktioneller Magnetresonanztomographie [fMRT]) benennen Kullmann et al. (2016) als hauptsächlich insulinsensitive ZNS-Regionen beim Menschen den Hypothalamus (verantwortlich für die Homöostase), präfrontalen Cortex (vermutlich Einfluss auf belohnungsvermittelte Nahrungsaufnahme), Striatum (Belohnungsverhalten) und Hippocampus (Gedächtnisbildung).

### 1.2.2 Aufbau und Wirkprofil zentraler IR

Der Aufbau der zentralen IR ist dem der peripheren IR sehr ähnlich: Sie bestehen aus einem tetrameren Membranprotein mit je zwei  $\alpha$ - und zwei  $\beta$ - Untereinheiten und gehören zu den Rezeptoren mit Tyrosinkinase-Aktivität (Zhao & Alkon, 2001). Das Binden von Insulin an die zentralen IR kann verschiedene Signalkaskaden auslösen. Unter anderem werden durch diese Prozesse wichtige Schritte der Gedächtnisbildung (vor allem über die Prozesse der Langzeitpotenzierung und synaptischen Plastizität) gefördert (Zhao et al., 2004).

## 1.3 Insulintransport ins Zentrale Nervensystem

Bei der vorliegenden Studie wurde die intranasale Verabreichungsform gewählt, um IR im ZNS zu erreichen. Diese Methode zeigt zahlreiche Vorteile gegenüber alternativen Applikationsformen.

Auch intravenös appliziertes Insulin kann über Rezeptor-vermittelten Transport die Blut-Hirnschranke (BHS) überwinden und so ins ZNS gelangen. Allerdings resultiert bei systemischer oder intraperitonealer Insulingabe eine Hypoglykämie mit zahlreichen Nebenwirkungen und gegenregulativen Hormonfreisetzungen. Durch eine gleichzeitige Glukose-Infusion kann man diesem Problem vorbeugen und eine Euglykämie gewährleisten. Allerdings fällt dann die Differenzierung schwer, ob die untersuchten Ergebnisse direkt durch Insulin oder sekundär durch die Glukosegabe erzielt wurden, die zur Gewährleistung einer Euglykämie erforderlich war (Strachan, 2005). Im Tierversuch erfolgt die zentrale Applikation von Insulin meist intracerebroventrikulär (icv) direkt ins ZNS (z. B. Brief & Davis, 1984). Diese Applikationsart ist aus ethischen Gründen - wegen der unvermeidbaren Invasivität - auf Humanexperimente nicht übertragbar. Die intranasale Applikation hingegen stellt eine noninvasive Möglichkeit für den Humanbereich dar, durch das Insulin schnell ins ZNS gelangen kann, ohne die periphere Glukose-

und Insulinkonzentrationen in Richtung einer Hypoglykämie zu beeinflussen (Born et al., 2002).

Die direkte Verbindung von der Nase in das ZNS wurde in zahlreichen Tier- und Humanexperimenten für den Stofftransport verschiedener Substanzen genutzt. Zum besseren Verständnis wird zunächst eine kurze Übersicht über die Anatomie der Nase und die physiologischen Grundlagen der intranasalen Route gegeben: Die Nase wird durch das Nasenseptum in zwei Teile untergliedert, die jeweils über eine untere, mittlere und obere Nasenmuschel verfügen (Concha nasalis inferior, media und superior). Ca. 7 cm vom Nasenloch entfernt, am Dach der Nasenhöhle, findet sich die olfaktorische Region, die teils auf dem Nasenseptum, teils auf der oberen Nasenmuschel liegt. Direkt oberhalb der olfaktorischen Region befindet sich die Lamina cribrosa (Siebbeinplatte), durch diese ziehen Riechfäden von der olfaktorischen Region ins ZNS - in den Bulbus olfactorius (Riechkolben). Von dort aus können, über neuronale Verschaltungen, Informationen an andere ZNS-Areale weitergeleitet werden (Illum, 2004). Dabei werden zwei grundsätzliche Wege beschrieben, über die die verabreichten Substanzen von der Nase ins ZNS gelangen - ein intraneuraler und ein extraneuraler Transportweg (Thorne, Emory, Ala & Frey, 1995; Born et al. 2002; Illum, 2004): Beim intraneuralen Transport werden die verabreichten Stoffe in primäre Neurone des olfaktorischen Epithels durch Endo- oder Pinozytose aufgenommen, sie gelangen über intrazellulären, axonalen Transport durch die Lamina cribrosa in den Bulbus olfactorius und von dort aus in weitere Teile des ZNS. Diese Route wurde bereits 1987 genutzt: intranasal verabreichtes Aluminum-Laktat konnte auf diesem Weg ins ZNS gelangen (Perl & Good, 1987). Allerdings benötigen die Stoffe auf intraneuralem Weg mehrere Stunden bis sie in der Zerebrospinalflüssigkeit (CSF) nachweisbar sind (Illum, 2004). Im Fall der intranasalen Substanzapplikation ist von einem extraneuralen Weg auszugehen: hier gelangen die Substanzen durch interzelluläre Lücken (clefts) in das olfaktorische Epithel und diffundieren von dort aus in den Subarachnoidalraum (Born et al., 2002). Nach dem Durchtritt durch die Lamina cribrosa gelangen diese Stoffe dann in die CSF. Der extraneurale Weg ist sehr schnell, bereits wenige Minuten nach Verabreichung konnte ein Anstieg des jeweiligen Stoffes in der CSF verzeichnet werden (u.a. für: Dihydroergotamin [Wang, Aun & Tse, 1998], Kokain [Chow, Chen & Matsuura, 1999], Dopamin [Dahlin, Jansson & Björk, 2001], Melanocortin, Vasopressin und Insulin [Born et al., 2002]). Passend zum oben beschriebenen Anstieg der Substanzen in der CSF zeigten u.a. Kullmann, Heni, Fritsche und Preissl (2015) auch bildgebend (fMRT und MEG), dass die intranasale Insulingabe bereits 30 Minuten nach Gabe zu einer Steigerung der ZNS-Aktivität führte.

## 1.4 Zentrale Insulineffekte auf Nahrungsaufnahme und Körpergewicht

Während in der vorliegenden Dissertation die Effekte von Insulin auf Gedächtnis, Befindlichkeit, BZ und periphere Hormonspiegel untersucht werden, soll dennoch auf einen wesentlichen Punkt verwiesen werden: die Effekte von zentralem Insulin auf Nahrungsaufnahme und Körpergewicht, die auch im Rahmen des hier vorliegenden DFG-Projekts erfasst wurden (s. Dissertationen Blicke, 2009 [Akut- und Langzeitwirkungen]; Löhr, 2016 [Akutwirkung]).

Aus zahlreichen Studien ergibt sich, dass Insulin im Hypothalamus eine Schlüsselrolle bei der Regulation von Nahrungsaufnahme und Körpergewicht übernimmt (u.a. Woods et al. 1985; Figlewicz & Sipols, 2010; Kleinridders et al., 2015). Dies konnte sowohl im Tierbereich (u.a. Air et al., 2002; Brief et al., 1984) als auch im Humanbereich (u.a. Hallschmid et al., 2004; Lee et al., 2016) gezeigt werden.

Bei akuter Gabe zentralen Insulins kommt es zum Rückgang der Nahrungsaufnahme (Air et al., 2002; Clegg et al., 2003) und bei langfristiger Gabe zu einer Gewichtsabnahme (Brief et al., 1984; Hallschmid, Benedict, Born, Fehm & Kern, 2004). Wichtige Moderatorvariablen sind dabei allerdings Ausgangsgewicht und Geschlecht. Die Effekte sind bei normal- und untergewichtigen Versuchstieren und Menschen deutlicher ausgeprägt als bei Übergewichtigen (Hallschmid et al., 2008; Ikeda et al., 1986), ursächlich hierfür ist wahrscheinlich eine zentrale Insulinresistenz bei Adipositas (zf. Kullmann et al., 2016).

Zudem gibt es verschiedene Studien, die belegen, dass von den Wirkungen zentralen Insulins hauptsächlich männliche Versuchstiere beziehungsweise Männer profitieren. Dabei ist das Zusammenspiel von Insulin und Leptin und ihren jeweiligen Rezeptoren im ZNS von großer Bedeutung: Beide Hormone fungieren als Adipositasignale und werden direkt proportional zum Körperfett ins Plasma sezerniert (Woods, Gotoh & Clegg, 2003). Die typische männliche Fettverteilung (hauptsächlich viszeral) ist mit dem peripheren Insulinspiegel korreliert, während die weibliche Fettverteilung (hauptsächlich subkutan) mit dem peripheren Leptinspiegel korreliert (Schwartz et al., 2000; Shi & Clegg, 2009). Tierexperimentell konnte nachgewiesen werden, dass es bei männlichen Versuchstieren durch die zentrale Gabe von Insulin zu einer Gewichtsabnahme, bei weiblichen Versuchstieren vor allem bei zentraler Leptin-Gabe zu einer Gewichtsabnahme kommt (Clegg et al., 2003). Auch im Humanbereich konnte bei akuter (Benedict et al., 2008) und bei Langzeitgabe (Hallschmid et al., 2004) von intranasalem Insulin die unterschiedliche Sensitivität zentralen Insulins bei Männern versus prämenopausalen Frauen nachgewiesen werden: zentral wirksames Insulin (160 IU) führte nur bei Männern zu einer

reduzierten Kalorienaufnahme bzw. bei langfristiger Gabe (8 Wochen) zu einer Gewichtsabnahme. Bei Frauen waren diese Effekte nicht nachweisbar (akut: keine reduzierte Kalorienaufnahme, Langzeit: keine Abnahme des Körperfettanteils und sogar Gewichtszunahme durch Wassereinlagerung).

In diesem Zusammenhang ist besonders der Einfluss von Geschlechtshormonen auf die zentrale Insulinwirkung von großem Interesse. In einer Studie mit Ratten wurde die Sensitivität zentralen Insulins (und Leptins; icv Gabe) in Interaktion mit Östradiol untersucht, in dem bei den männlichen und weiblichen Versuchstieren die peripheren Östradiolspiegel experimentell manipuliert (durch Kastration, Östradiolsubstitution oder Ovariectomie) wurden. Zusammenfassend zeigte sich, dass unterschiedlich hohe Östradiolkonzentrationen zu unterschiedlichen Insulin- und Leptinsensitivitäten bei den Versuchstieren führten: ein niedriger Östradiolspiegel erhöhte die Insulinsensitivität, ein hoher peripherer Östradiolspiegel (oder die icv Gabe von Östradiol) verminderte die Insulinsensitivität (und erhöhte die Leptinsensitivität; Clegg, Brown, Woods & Benoit; 2006). In einer Studie, in der die Ergebnisse prä- und postmenopausaler Frauen (hohe Östradiol- vs. niedrige Östradiolspiegel) nach Insulingabe verglichen wurden, konnte allerdings kein Unterschied bei der Nahrungsaufnahme zwischen den Teilnehmerinnen der beiden Gruppen verzeichnet werden (Krug, Benedict, Born & Hallschmid, 2010).

Dass der prandiale Zustand bei Insulinadministration eine Rolle spielen kann, wird in einer Studie von Hallschmid, Higgs, Thienel, Ott und Lehnert (2012) mit prämenopausalen Frauen deutlich: hierbei zeigte sich, dass der Verzehr von besonders schmackhaften Snacks (z.B. Schokoladenkeksen) niedriger war, wenn Insulin postprandial (verglichen mit Insulingabe bei einer nüchternen Gruppe) gegeben wurde. Insulin fungierte hier somit wahrscheinlich als Sättigungssignal und beeinflusste vor allem das belohnungs-assoziierte Essverhalten im Sinne einer Reduktion des Verzehrs der schmackhaften Snacks. Dies zeigt, dass ein weiterer Aspekt zentralen Insulins der Einfluss auf Belohnungsverhalten und Belohnungswirkung der Nahrungsaufnahme ist, was wiederum passend ist zu den Einflüssen von Insulin auf verschiedene Aspekte der Befindlichkeit (siehe 1.7).

## 1.5 Effekte zentralen Insulins auf Gedächtnis und kognitive Fähigkeiten

Insulin und IR kommen in verschiedenen ZNS-Regionen (Hippocampus, frontaler Kortex, Striatum, Hypothalamus) vor, die eine wichtige Rolle bei höheren kognitiven Fähigkeiten spielen (zf. Kullmann et al., 2016; Zhao et al., 2004). Dabei hat zentrales Insulin einen positiven Einfluss auf Gedächtnis und Kognition (zf. Gerozissis, 2003; Shemesh et al., 2012; Lee et al.

2016). Ein Mangel an Insulin und IR im ZNS hingegen führt zu kognitiven Einbußen; diese Neuropathologie ist bei der Alzheimer-Demenz (AD) nachweisbar (zf. Shemesh et al. 2012; De Felice, 2013; De Felice & Benedict, 2015; Lee et al., 2016).

Die vorliegende Arbeit fokussiert auf Seiten der abhängigen Variablen die Insulinwirkung auf Leistungen des deklarativen Gedächtnisses. Das deklarative, auch explizite, Gedächtnis umfasst Inhalte, die bewusst gelernt und wieder abgerufen werden und dabei über Sprache ausgedrückt (deklariert) werden.

### 1.5.1 Tierexperimentelle Daten

In den folgenden Abschnitten wird auf Daten aus verschiedenen Tierexperimenten eingegangen. Zum einen werden Studien referiert, bei denen zentral Insulin gegeben wurde (icv oder intrahippocampal), zum anderen Studien, bei denen es zu negativen Effekten des Gedächtnisses durch Inaktivierung zentraler IR kommt.

*Gabe von zentral wirksamem Insulin:* Bei Ratten zeigte sich ein positiver Lerneffekt bei passiven Vermeidungsaufgaben bei einmaliger icv (Park et al., 2000) bzw. intrahippocampaler Insulingabe (Babri et al., 2007; Stern et al., 2014): 24 Stunden nach der Substanzgabe wiesen die Ratten, die Insulin erhalten hatten, eine bessere Leistung auf, als die Tiere, die die Kontrollsubstanz (Kochsalzlösung) erhalten hatten. Hierbei liegen dosisabhängige Effekte vor: die einmalige icv Gabe führte in einer hohen Dosis Insulin (16 und 32 mU Insulin) zu einer besseren kognitiven Leistung als eine niedrige Dosis Insulin (2, 4 oder 8 mU Insulin) oder Kochsalzlösung (Haj-ali, Mohaddes & Babri, 2009). Auch längerfristig verabreichtes Insulin verfügt über gedächtnissteigernde Wirkung: Ratten wurde über einen Zeitraum von 7 Tagen intranasal Insulin (zweimal täglich 10 µl einer 5µg/µl Insulinlösung), hitzedeaktiviertes Insulin oder keine Substanz verabreicht; bei der Gedächtnisüberprüfung (Objektwiedererkennungstest) wiesen die Insulin behandelten Ratten bessere Ergebnisse, sowohl im kurzen Abstand bis zum Abruf als auch im Langzeitgedächtnis, auf (Wiedererkennung des Objektes nach einer Stunde, bzw. nach 24 Stunden; Marks et al., 2009). Außerdem gibt es Hinweise auf eine altersabhängige zentrale Insulinresistenz: nach icv Gabe von Insulin (täglich 5 mU icv über den Zeitraum von vier Wochen) kam es zu einer signifikant verbesserten räumlichen Gedächtnisleistung bei jungen Ratten, nicht jedoch bei älteren Tieren (Adzovic et al., 2015). Zudem wurde in diesem Experiment der Einfluss von Insulin auf die chronische Neuroinflammation im ZNS bestätigt: Durch Lipopolysaccharid-Infusion in den vierten Ventrikel wurde experimentell der Zustand einer Neuroinflammation generiert, bei den jungen Versuchstieren kam es durch die vierwöchige Insulinapplikation zu einem deutlichen Rückgang der Neuroinflammations-Marker. Auch Zhao et al. (2004) berichten in einer Übersichtsarbeit über neuroprotektive Insulineffekte:

durch Insulin kam es zur Prävention von Gedächtnisverlust, induziert durch Ischämie, Läsionen oder pharmakologische Ursachen: Wenn direkt nach einem ischämischen Ereignis Insulin in Kombination mit Glukose gegeben wurde, waren die nachfolgend untersuchten Gedächtnisleistungen der Versuchstiere (getestet mit dem Wasserlabyrinth 1-2 Monate nach dem ischämischen Ereignis) besser als bei den Tieren, die keine Therapie oder reine Glukose erhalten hatten. Auch dem Untergang von kortikalen Neuronen durch oxidativen Stress wirkt Insulin durch Bereitstellen von Antioxidantien und über die Regulierung der Energiehomöostase entgegen, was einen weiteren neuroprotektiven Mechanismus darstellt (Duarte, Santos, Oliveira & Rego, 2005). Auch durch intrahippocampale Gabe von Insulin (6 mU und 12 mU) konnte stressbedingten Lern- und Gedächtnisdefiziten - getestet im Wasserlabyrinth – entgegengewirkt werden (Moosavi, Naghdi, Maghsoudi & Zahedi Asl, 2007).

*Inaktivierung zentraler IR:* In Übereinstimmung mit den positiven Lern- und Gedächtniseffekten bei Insulinverabreichung sind Daten, die zeigen, dass die experimentelle Inaktivierung zentraler IR einen negativen Einfluss auf Gedächtnisparameter hat. Eine durch Streptozotocin-Injektion (STZ) herbeigeführte Zerstörung zentraler IR führte bei Ratten zu Defiziten in Lernen, Gedächtnis und kognitivem Verhalten (die STZ-behandelten Tiere erbrachten schlechtere Leistungen bei passiven Vermeidungsaufgaben, im Wasserlabyrinth und im sogenannten *Holeboard-Test* [Lannert & Hoyer, 1998; Grünblatt et al., 2007]). Durch selektive, experimentelle Downregulation von IR im Hippocampus von Ratten (durch Übertragung des Lentivirus in den dritten Hirnventrikel) kam es zu einer verminderten synaptischen Plastizität im Hippocampus und zur Verschlechterung des räumlichen Lernens (Grillo et al., 2015).

### 1.5.2 Humanexperimentelle Daten bei Gesunden

Auch humanexperimentelle Daten belegen, dass Insulin und IR in den Hippocampus- und Cortexregionen eine wichtige Rolle bei kognitiven Funktionen spielen und Insulingabe die Gedächtnisleistung verbessern kann. Grundsätzlich gibt es verschiedene Möglichkeiten der Insulinverabreichung unter Beibehaltung einer Euglykämie: die sogenannte euglykämische Clamp-Methode, bei der Insulin intravenös gegeben wird und zur Erhaltung der Euglykämie gleichzeitig Glukose gegeben wird. Zum anderen gibt es die Möglichkeit der intranasalen Gabe. Generell ist die Differenzierung zwischen akuten Insulineffekten (1.5.2.1) und den Effekten nach längerfristiger Gabe (1.5.2.2) interessant. Zudem wird auch darauf eingegangen, ob sich die gedächtnismodifizierenden Effekte intranasalen Insulins zwischen Männern und Frauen und abhängig vom Östradiolspiegel unterscheiden (1.5.3).

### 1.5.2.1 Akute Insulineffekte bei Gesunden

*Humanstudien mit euglykämischer Clamp-Methode:* In einem Experiment von Kern et al. (2001) wurde zwei Gruppen von gesunden jungen Männern eine hohe (15 mU Insulin pro kg Körpergewicht pro Minute) bzw. eine niedrige Insulindosis (1,5 mU pro kg Körpergewicht pro Minute) als Infusion gegeben. Dabei wurde durch gleichzeitige Glukoseinfusion der Zustand einer Euglykämie gewährleistet. Bezüglich der Gedächtnisleistung zeigte sich bei der Gruppe, die die hohe Insulindosis bekam, eine deutlich bessere Leistung der Wörterwiedergabe und somit die positive Beeinflussung der deklarativen Gedächtnisleistung. Eine gedächtnisfördernde Wirkung durch intravenöse Insulingabe vs. Placebo konnte auch in einem Humanversuch mit 16 gesunden, älteren Studienteilnehmern (Durchschnittsalter 68,7 Jahre) festgestellt werden. Um einen euglykämischen Zustand zu gewährleisten, wurde zusätzlich zur Insulininfusion (1.0 mU pro kg Körpergewicht pro Minute) auch Dextrose i.v. gegeben. Nach 120-minütiger Infusion wurde ein Gedächtnistest durchgeführt, bei dem es zu einer deutlichen Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses der Insulin behandelten Pbn kam (Watson et al. 2003).

*Humanstudien mit intranasaler Insulingabe:* Die intranasale Applikationsroute hat den besonderen Vorteil, dass nach intranasaler Insulingabe der BZ im euglykämischen Bereich bleibt und somit die direkten Effekte von Insulin – unter Ausschluss einer Hypoglykämie – untersucht werden können (Born et al., 2002) und zudem keine Glukosegabe zur Herstellung der Euglykämie nötig wird. Im folgenden Abschnitt wird auf die wichtigsten Studien eingegangen, die die Gedächtnisleistung von gesunden Pbn nach einmaliger Gabe von intranasalem Insulin adressieren.

Benedict et al. (2008) überprüften in einer Studie mit gesunden jungen Männern und Frauen die Effekte intranasalen Insulins unter anderem auf die Gedächtnisleistung. Hierbei zeigten sich interessante Geschlechterunterschiede: nur bei den Frauen, die Insulin erhalten hatten war eine verbesserte Gedächtnisleistung nachweisbar (auf die differentielle Sensitivität zwischen Männern und Frauen wird in Kapitel 1.5.3 noch genauer eingegangen).

In einer weiteren Studie mit 18 gesunden jungen Männern wurden die akuten Gedächtniseffekte von intranasal verabreichtem Insulin (40 IE Insulin vs. Placebo [HOE 31 Verdünnungspuffer]) anhand geruchs-assoziierter Reize überprüft. Hierbei konnte gezeigt werden, dass es nach einmaliger Gabe von intranasalem Insulin zu einer verbesserten, zeitversetzten Gedächtnisleistung (10 Minuten nach der direkten Wiedergabe) von geruchs-assozierten Reizen kam. Bei der unmittelbaren Überprüfung unterschieden sich die beiden Gruppen nicht (Brünner et al., 2015).

### 1.5.2.2 Langzeiteffekte bei Gesunden

Wie auch bei den akuten Insulineffekten auf das deklarative Gedächtnis zeichnet sich eine Verbesserung bei zentraler Langzeitinsulingabe ab. Bei normgewichtigen gesunden Männern und Frauen (Studierende, 18 bis 34 Jahre) war eine verbesserte Gedächtnisleistung nach längerfristiger Insulingabe in der zeitversetzten Überprüfung der Lerninhalte deutlich (Benedict et al., 2004). Hier erzielten die Insulin vs. Placebo behandelten Pbn (4x/Tag intranasal 40 IE Insulin vs. Placebo für 8 Wochen) bei einem Test der Wörterwiedergabe eine signifikante Verbesserung beim verzögerten Abruf (nach einer Woche), wohingegen sich bei der unmittelbaren Überprüfung der Lerninhalte (Wörterwiedergabe nach 3 Minuten) keine Unterschiede zeigten. Auch bei übergewichtigen Männern erzielten die längerfristig Insulin behandelten Pbn (achtwöchige Treatmentphase mit täglich 160 IE Insulin oder Placebo intranasal) im verzögerten Abruf (zeitversetzt um eine Woche) deutlich bessere Werte als die Placebo-Gruppe (Hallschmid et al., 2008). In einer weiteren Studie von Benedict et al. (2007) verabreichten gesunde, normalgewichtige Männern intranasal entweder Placebo, Humaninsulin oder ein schnell wirkendes Insulinanalogon (Insulin aspart). Wie im Experiment von 2004 (siehe oben) wurde bei Überprüfung des deklarativen Gedächtnisses deutlich, dass die Gabe von Insulin zunächst keine Gedächtnisverbesserung bei der unmittelbaren Überprüfung zur Folge hatte. Die längerfristige Insulingabe (4x/Tag 40 IE für 8 Wochen) führte jedoch zu einer deutlichen Verbesserung der Wörterwiedergabe beim verzögerten Abruf (eine Woche nach Ende der Treatmentphase). Die positiven Effekte auf das deklarative Gedächtnis waren dabei besonders deutlich bei der Gabe des schnell wirksamen Insulinanalogons.

*Insgesamt* stellt sich dar, dass die gedächtnisfördernde Wirkung von intranasal verabreichtem Insulin nach erfolgter Konsolidierung und somit im verzögerten Abruf (> 24 Stunden) deutlicher nachweisbar sind.

### 1.5.3 Geschlechtsunterschiede in den Gedächtniseffekten

Wie schon in 1.4 dargestellt, hat die intranasale Insulingabe geschlechtssensitiv unterschiedliche Effekte, wenn es um Nahrungsaufnahme und Gewicht geht (u.a. Schwartz et al., 2000; Clegg et al., 2003). Auch im Bereich der Gedächtniseffekte intranasalen Insulins ist von Interesse, ob Unterschiede bei Männern und Frauen vorliegen.

In der bereits unter 1.5.2 erwähnten Studie von Benedict et al. (2008) mit gesunden Pbn (14 Männer, 18 Frauen) wurde u.a. die Gedächtnisleistung anhand verschiedener Tests untersucht: 20 Minuten und 75 Minuten nach Substanzgabe (160 IE Insulin oder HOE 31 Verdünnungspuffer als Placebo) wurden zur Überprüfung des Arbeitsgedächtnisses der sogenannte *digit-span-test* (Test zur Wiedergabe von Zahlen in richtiger und umgekehrter Abfolge) sowie

eine hippocampusabhängige visuell-räumliche Lokalisationsaufgabe (Erinnern möglichst vieler verdeckter Kartenpaare) und eine hippocampusunabhängige Spiegelzeichenaufgabe durchgeführt. Insgesamt (Männer und Frauen) zeigten sich bei den Gedächtnisaufgaben keine Unterschiede zwischen der Insulin- und der Placebo behandelten Gruppe. Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht wurde allerdings deutlich, dass Frauen im zweiten Durchlauf (75 Minuten nach Substanzgabe) des *digit-span-test* von der Insulingabe (vs. Placebo) im Sinne einer deutlich besseren Gedächtnisleistung profitierten (keine Unterschiede in der ersten Wiedergabe 20 Minuten nach Substanzgabe). Der insulinverursachte Gedächtnisvorteil bei Frauen zeigte sich auch in der visuell räumlichen Lokalisationsaufgabe, aber nicht bei der hippocampusunabhängigen Spiegelzeichenaufgabe.

Um zu untersuchen, ob der Östradiolspiegel modulierend auf die Wirkung von zentralem Insulin auf die Gedächtnisleistung einwirkt, wurden in einer – im Ablauf identischen -Folgestudie ausschließlich postmenopausale Frauen (mit niedrigem Östradiolspiegel) untersucht (Krug et al., 2010). Die Ergebnisse der postmenopausalen Studie (Krug et al., 2010) wurden mit denen der jungen, prämenopausalen Frauen (Studie Benedict et al., 2008) - alle Frauen nahmen Östradiol-dominierte orale Kontrazeptiva ein (Valette®, Jenapharm) – verglichen: Die postmenopausalen Insulin behandelten Frauen wiesen – wie schon die prämenopausalen Frauen – eine verbesserte Leistung im zweiten Durchgang des *digit-span-test* auf (75 Minuten nach Substanzgabe), im ersten Durchgang (20 Minuten nach Substanzgabe) ergab sich kein Unterschied. Bei der visuell-räumlichen Gedächtnisaufgabe (verdeckte Kartenpaare) war die Leistung der Insulin behandelten Gruppe qualitativ besser als die Leistung der Placebo-Gruppe, allerdings war dieser Unterschied statistisch nicht signifikant. Entgegen der ursprünglichen Erwartungen – dass der Östrogenspiegel modulierend auf die Wirkung intranasalen Insulins wirkt - zeigte sich bei den prä- und postmenopausalen Studienteilnehmerinnen ein vergleichbarer Einfluss von Insulin auf die Gedächtnisleistung: sowohl prä- als auch postmenopausale Frauen wiesen eine Verbesserung bei der hippocampusabhängigen Lokalisationsaufgabe und der Überprüfung des Arbeitsgedächtnisses auf. Unterschiedliche, aber auch durch Kontrazeptiva manipulierte Östrogenspiegel der prä- vs. postmenopausalen Frauen waren hier nicht unterschiedlich von zentralem Insulin moduliert.

*Insgesamt* geht aus der bisherigen Datenlage hervor, dass zentrales Insulin bei Gesunden positive Gedächtniseffekte hat, die allerdings mit Aufgabentyp, Geschlecht und auch Zeitpunkt des Abrufs variieren. In der vorliegenden Dissertation liegt der Fokus auf der Untersuchung von Effekten nach längerfristiger Insulingabe vs. Placebo (vgl. auch Blicke, 2009). (In der vorangegangenen Akutstudie des Gesamtprojektes wurden ebenfalls akute Insulineffekte u.a. auf die Gedächtnisleistung untersucht, vgl. Blicke, 2009). Im Rahmen der

Längsschnittdatenerhebung wird die längerfristige Insulingabe über den Zeitraum von 8 Wochen (Treatment-Phase) und auch in einer Follow-up Phase beobachtet. Um mögliche Geschlechtshormon-vermittelte Effekte und den Einfluss von Östradiol auf die insulinabhängige Gedächtnismodifikation zu untersuchen, wurden nur solche (prämenopausale) Frauen in die Studie aufgenommen, die keine hormonellen Kontrazeptiva einnahmen, wodurch sich auch ein wichtiger Unterschied zu der von Benedict et al. (2008) durchgeführten Studie ergibt. Daraus ergibt sich u. a. auch die Möglichkeit, Korrelationen zwischen *natürlich variierenden* Östradiolspiegeln und Insulin- vs. Placebo modulierter Gedächtnisleistung zu prüfen.

#### 1.5.4 Humanexperimentelle Daten bei klinischen Gruppen

Die Kenntnis, dass Insulin über gedächtnisfördernde Wirkung bei Gesunden verfügt, hat in den letzten Jahren einen großen Stellenwert in der klinischen Forschung bei verschiedenen Krankheiten eingenommen, die kognitive Defizite aufweisen:

*Phelan-McDermid Syndrom:* In einer Studie mit Kindern, die an einem Phelan-McDermid Syndrom (Deletion des langen Arms von Chromosoms 22q13) erkrankt sind, wurden die Effekte intranasalen Insulins (0.5-1.5 IE Insulin pro kg Körpergewicht pro Tag) über den Zeitraum von einem Jahr untersucht. Symptome dieser Erkrankung sind unter anderem Sprach- und generelle Entwicklungsverzögerung, autistisches Verhalten und kognitive Defizite. Nach der einjährigen Insulinbehandlung konnte neben einer verbesserten Fein- und Grobmotorik, eine Verbesserung der nonverbalen Kommunikation und bei höherem Bildungsniveau auch eine deutliche Verbesserung der kognitiven Fähigkeiten festgestellt werden (Schmidt, Kern, Giese, Hallschmid & Enders, 2009). Auch in einer weiteren Studie, in der über einen Zeitraum von 6 Monaten intranasales Insulin (abhängig von Körpergewicht 0.6-2.0 IE Insulin pro kg pro Tag) oder Placebo an Kinder zwischen 1 und 16 Jahren verabreicht wurde, zeigten sich signifikant bessere kognitive Werte in der Insulin behandelten Gruppe der über 3-Jährigen (Zwanenburg et al., 2016).

*Mild cognitive impairment (MCI) und AD:* Neben dem seltenen Phelan-McDermid Syndrom spielt die (mögliche) Bedeutung von Insulin bzw. einer defizitären Insulinsignalfunktion in der Pathogenese der weit verbreiteten AD mit ihrem Verlust an kognitiven Fähigkeiten eine große Rolle in der Forschung. Besonders, da im ZNS von verstorbenen AD-Patienten defizitäre IR entdeckt wurden, die mit einer relativen zentralen Insulinresistenz einhergehen (zf.: de la Monte 2014; De Felice & Benedict, 2015). Die Prävalenz der Demenz nimmt stetig zu. Laut Schätzungen der WHO und *Alzheimer's Disease International* litten 2015 ca. 46,8 Millionen Menschen weltweit an einer Demenz, 2020 waren es schätzungsweise bereits ca. 55 Millionen (Deutsche Alzheimer Gesellschaft e.V., Alzheimer's Disease International). Die AD ist hierbei

mit ca. 60% die häufigste Form der Demenz-Erkrankungen. Charakteristisch für die AD ist eine progrediente Störung sowohl kognitiver (Gedächtnis- und Orientierungsstörungen) als auch nicht-kognitiver Funktionen (u.a. Unruhe, Agitiertheit, Depression; zf. Huang & Mucke, 2012). Kennzeichen bei der Pathophysiologie der AD sind die morphologischen Veränderungen im ZNS: Es finden sich senile  $\beta$ -amyloide Plaques, neurofibrilläre Verknäulungen (durch hypophosphoryliertes Tau-Protein) und ein Untergang kortikaler Neurone (Hölscher, 2005). Die Pathomechanismen, die zu einer AD führen, sind bislang nicht vollständig geklärt. Allerdings gibt es auch Daten, die auf einen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer AD und Veränderungen von zentralen IR und dem zentralen Insulin-Stoffwechsel hinweisen (Willette, 2016, zf. u.a.: Hoyer, 1998; de la Monte & Wands, 2005; Talbot & Wang, 2014; De Felice & Benedict, 2015). Daher gibt es zunehmend Studien, die die Effekte von zentralem Insulin auf die Gedächtnisleistung von Patienten mit milden, amnestischen Gedächtnisdefiziten, sog. MCI-Patienten (MCI = mild cognitive impairment) und Patienten mit AD untersuchen (zf. Freiherr et al., 2013).

Erste Studien bestätigen die Annahme eines positiven Effektes zentral wirksamen Insulins auf kognitive Funktionen von AD-Patienten: Nach akuter Insulingabe (20 IE oder 40 IE Insulin vs. Placebo) verbesserte sich die verbale Gedächtnisleistung von AD-Patienten (Reger et al., 2006). In diesem Studiendesign wurden Patienten mit Gedächtnisdefiziten (je 13 Patienten mit MCI und AD, Durchschnittsalter: 77 Jahre) und einer Kontrollgruppe gesunder Pbn (35 Pbn, Durchschnittsalter 74 Jahre, Alter wurde als Kovariante in allen statistischen Analysen berücksichtigt) betrachtet, wobei die AD-Patienten zusätzlich abhängig vom Vorliegen des APO E4 Gens (genetischer Risikofaktor für AD) unterteilt wurden (APO E4 positiv oder negativ). Unter Gabe von 20 IE und 40 IE Insulin zeigte sich eine signifikante Verbesserung der verbalen Gedächtnisleistung bei Apo E4 negativen AD-Patienten (nicht bei APO E4 positiven AD-Patienten und gesunden Pbn), dies legt die Vermutung nahe, dass AD-Patienten von einer therapeutischen zentralen Insulingabe profitieren können, wobei das Vorliegen des Apo E4 Gens mitberücksichtigt werden sollte.

Auch in der Langzeitgabe von Insulin gibt es Daten, die positive Effekte auf die Gedächtnisleistung bei AD- und MCI-Patienten nahelegen: In einer weiteren Studie von Reger et al. (2008) mit 25 Patienten mit MCI oder einem frühen Stadium von AD war nach 3-wöchiger Gabe von intranasalem Insulin (20 IE täglich) vs. Placebo eine Gedächtnisverbesserung (Wörterwiedergabe) und verbesserte Aufmerksamkeit in der Insulin-Gruppe nachweisbar.

Auch nach einer noch längerfristigen Gabe von intranasalem Insulin (20 IE oder 40 IE täglich) vs. Placebo an 64 MCI-Patienten und 40 AD-Patienten über 4 Monate konnte anhand verschiedener Gedächtnistests und gängiger Alzheimer-Skalen zur Messung kognitiver

Fähigkeiten und Alltagsfertigkeiten Verbesserungen beobachtet werden: unter 20 IE Insulin verbesserte sich die Gedächtnisleistung (um 20 Minuten verzögerter Abruf Gedächtnisinhalten). 20 IE und 40 IE Insulin hatten positiven Einfluss auf generelle kognitive Leistungen (überprüft anhand der Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive subscale [ADAS-cog]) und Alltagsfertigkeiten blieben besser erhalten als üblicherweise für den Krankheitsprogress in diesem Zeitraum prognostiziert. Bei einem Teil der Patienten wurden zusätzlich eine Lumbalpunktion mit Liquoruntersuchung und eine Positronenemissionstomographie (PET) vor Beginn und nach Abschluss der Behandlung durchgeführt: in der Placebo-Gruppe kam es in verschiedenen ZNS-Arealen (frontale, temporale, okzipitale Kortexregionen, Precuneus- und Cuneus-Regionen) zu einer Abnahme der Aktivität, wo hingegen nach viermonatiger Insulingabe in diesen Arealen eine gleichbleibende bis leicht erhöhte Aktivität zu verzeichnen war – also eine Vermeidung des Funktionsverlustes im ZNS bei AD-Patienten durch zentral wirksames Insulin.

*In Summe* zeigen die Ergebnisse dieser Studien positive Effekte von Insulin auf kognitive Fähigkeiten und Alltagsfertigkeiten und geben Hinweis auf einen verlangsamten Krankheitsverlauf der AD bei Erhöhung zentralen Insulivorkommens.

#### 1.5.5 Komorbidität von Diabetes und Alzheimer-Demenz

Ein wichtiger Punkt bei der klinischen Forschung im Bereich der AD ist zudem die Frage nach der Komorbidität von AD und Diabetes mellitus. In der sog. Rotterdam-Studie konnte die Arbeitsgruppe um Ott et al. (1999) in einer großangelegten prospektiven Kohortenstudie zeigen, dass das Vorliegen von Typ 2 Diabetes mellitus (T2D) das Risiko, an einer Demenz zu erkranken, signifikant erhöhte. Bei AD gibt es Auffälligkeiten bei der Insulin-Wirkung und Abnormalitäten bei Expression und Funktionen der IR, ähnlich den peripheren Pathomechanismen bei T2D (z. B. de la Monte & Wands, 2005). Auch bildgebend sind im ZNS von AD-Patienten pathologische Veränderungen im sogenannten *Default Mode Network-Regionen* (Ruhezustandsnetzwerk, ein Netzwerk, das höhere kognitive Funktionen steuert) zu sehen. Störungen in der Konnektivität der *Default Mode Network-Regionen* (Hippocampus, Praecuneus und präfrontalen Cortexregionen) können daher kognitive Einbußen erklären. Interessanterweise konnten hier ähnliche Pathologien bei AD und bei T2D-Patienten festgestellt werden (Kullmann et al., 2016). Gemeinsame pathologische Komponenten zwischen AD und T2D sind vermutlich entzündliche Gewebeprozesse, Störungen des Insulinstoffwechsels bzw. die Insulinresistenz und Dysfunktionen der Mitochondrien (De Felice, 2013 und 2015).

*Zusammenfassend* zeigt die aktuelle Forschung vielversprechende positive Effekte von zentral nervös wirksamem Insulin auch auf die kognitive Leistung bei Patienten mit kognitiven

Defiziten und speziell bei Patienten und Patientinnen mit MCI und AD (zf. u.a. Shemesh et al. 2012; De Felice, 2013; De Felice & Benedict, 2015; Lee et al., 2016). Der therapeutische Nutzen von intranasalem Insulin, vor allem die langfristige Gabe, sollte daher weiterhin klinisch untersucht werden. Dazu ist es aber zunächst wichtig, die Effekte langfristiger Insulingabe und auch Follow-up Effekte bei Gesunden zu erforschen.

## 1.6 Zentrales Insulin und Effekte auf die peripheren Insulin- und Blutzuckerspiegel

In der Peripherie ist Insulin maßgeblich an der Glukoregulation beteiligt. Es stellt sich nun die Frage, ob zentral wirksames Insulin ebenfalls den peripheren Insulinspiegel und BZ beeinflusst. In verschiedenen Tierversuchen konnte gezeigt werden, dass die icv-Infusion (Chen, Woods & Porte, 1975) und die Infusion von Insulin in die Cisterna magna (Chowers, Lavy & Halpern, 1966), über vagal vermittelte Signalwege bei Hunden (Chen et al.; Chowers et al.) und bei Hühnern (Infusion in Cisterna magna, Anderson & Hazelwood, 1969) zu einer Erhöhung der endogenen Insulinfreisetzung führt.

Stockhorst et al. (2011a) untersuchten ebenfalls die Wirkung von intranasalem Insulin an gesunden männlichen Pbn und verwendeten dabei ein Versuchsprotokoll klassischer Konditionierung (über zwei aufeinanderfolgende Tage: an Tag 1 erhielten die Pbn randomisiert entweder intranasal verabreichtes Insulin [sechsmal 20 IE, im Abstand von je 15 Minuten] oder Placebo, konditionierter Stimulus [CS] war der teeähnliche Geruch des in Insulin oder Placebolösung enthaltenen Konservierungsstoffes meta-cresol. An Tag 2 erhielten die Pbn beider Gruppen den CS und die Placebolösung unter konstanten zeitlichen Bedingungen). Intranasales Insulin induzierte eine (unkonditionierte) Zunahme des peripheren Insulinspiegels an Tag 1, dieser Anstieg blieb auch an Tag 2 (als konditionierter Effekt) unter Placebogabe erhalten. Außerdem führte Insulin an Tag 1 (unkonditioniert) im Vergleich zu Placebo zu einer Abnahme des BZ unter Beibehaltung der Euglykämie. Die BZ-Abnahme war an Tag 2 (konditioniert) zwischen den Gruppen nur noch richtungsmäßig, aber nicht mehr signifikant unterschiedlich. Die Erklärung für die Veränderungen von peripherem Insulin und BZ liegen in einer neuronal vermittelten Steigerung der Vagusaktivität, die zu einer gesteigerten Insulinsekretion aus den vagal innervierten B-Zellen des Pankreas und damit zum Absinken des BZ führt. Dabei legt der konditionierte Insulianstieg bei Gabe von CS und Placebo auch nahe, dass die vagale Aktivität konditionierbar ist, so wie infolge einer hoch dosierten peripheren Insulininjektion (als US) bei gesunden männlichen Probanden gezeigt (Stockhorst, Hünig, Ziegler & Scherbaum, 2011b).

In Humanstudien wurde allerdings nicht einheitlich eine deutliche Beeinflussung des peripheren Insulins und BZ durch zentral wirksames Insulin gemessen: In einer Studie von Kern et al. (1999), in der intranasales Insulin vs. Placebo 18 gesunden Pbn verabreicht wurde, zeigte sich kein Einfluss auf peripheres Insulin und BZ. Auch in einer weiteren Humanstudie mit 24 Männern kam es zu keiner Beeinflussung von peripherem Insulin und BZ durch intranasale Insulingabe (Hallschmid et al., 2004). In einer Studie von Reger et al. (2008) mit Patienten mit milden kognitiven Defiziten (MCI) zeigte sich nach Gabe von intranasalem Insulin ein Abfall des BZ im euglykämischen Bereich und war ebenfalls unter Gabe von Placebo zu beobachten. Krug et al. (2010) verzeichneten nach einmaliger intranasaler Insulingabe bei postmenopausalen Frauen einen geringen Abfall des peripheren BZ innerhalb des euglykämischen Bereiches, der allerdings nicht signifikant war.

## 1.7 Zentrales Insulin und Befindlichkeit

Der Einfluss von zentralem Insulin auf emotionale und motivationale Prozesse konnte sowohl in ersten Tierexperimenten als auch in ersten Humanstudien nachgewiesen werden. Für den Humanbereich werden in diesem Zusammenhang Daten zu Stimmung und Befindlichkeit referiert. Dabei ist die Datenlage zur Befindlichkeit nach intranasaler Insulingabe bei Gesunden insgesamt noch begrenzt, insbesondere zur langfristigen Gabe von intranasalem Insulin sind weitere Studien notwendig.

### 1.7.1 Tierexperimentelle Daten

Die tierexperimentellen Studien nach *Gabe von zentral wirksamem Insulin* zur Wirkung auf emotionale und motivationale Prozesse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Die zentrale Insulingabe hat anxiolytische Effekte bei Nagetieren. Marks et al. (2009) verabreichten Ratten über einen Zeitraum von 7 Tagen intranasal Insulin und untersuchten in verschiedenen Versuchsanordnungen (s.u.) das Angstverhalten der Tiere:

- In der sogenannte *light/dark box*, bestehend aus hellen und dunklen Kompartimenten, fühlen sich nachtaktive Nagetiere üblicherweise in den dunklen Kompartimenten wohler. In der Versuchsanordnung hielten sich die Insulin behandelten Ratten länger im hellen Kompartiment der Box auf als die Kontrollgruppe.
- *Beim marble burying test* ist in einem standardisierten Käfig mit Füllmaterial eine festgelegte Anzahl Murmeln. Das Vergraben der Murmeln spricht für ein ängstliches Verhalten der Tiere. Die Insulin behandelten Ratten vergruben in einem festgelegten Zeitraum von 45 Minuten weniger Murmeln als die Ratten, die kein Insulin erhalten hatten.

- Das *elevated plus maze* ist ein plusförmiges, hochgestelltes Labyrinth und besteht aus zwei gesicherten, geschlossenen Armen und zwei ungeschützten, offenen Armen. Die Insulin behandelten Tiere verbrachten im Versuchsablauf mehr Zeit auf den offenen, ungeschützten Armen.

Zusammenfassend zeigte sich in den drei oben beschriebenen Versuchsanordnungen, dass die 7-tägige Insulingabe bei den untersuchten Tieren anxiolytische Effekte erzielte.

Auch eine Beeinflussung durch Insulin-like Growth factor 1 (IGF-1) auf Verhaltenskorrelate von Angst (hier gemessen anhand des *elevated plus maze* [s.o.]) - getriggert durch Erfahrungen in der frühen Entwicklung (nachfolgend als „frühkindliche“ Erfahrungen) - bei Ratten konnte nachgewiesen werden: Frühkindliche Erfahrungen beeinflussen Stressanfälligkeit und ängstliches Verhalten im Erwachsenenalter. Bei Nagetieren ist nachweisbar, dass mütterliche Pflege, eine angereicherte Umgebung (*enriched environment*) oder Massage der Tiere das Stressverhalten des Nachwuchses positiv - im Sinne einer Stressreduktion - beeinflusst. Baldini et al. (2013) zeigten, dass auch die frühe subkutane Injektion von humanem IGF-1 (gewichtsabhängige IGF-1 Injektion von 10 µg/µl in einer Dosis von 1.8 µg/g Körpergewicht einmal täglich vom 1. bis zum 9. postnatalen Tag) ähnliche Effekte - im Sinne von reduziertem Angstverhalten - hervorruft. Hingegen verhinderte die frühe Inaktivierung von IGF-1 (durch den Antagonisten JB1) die erwarteten positiven Effekte durch *enriched environment* und Massage.

*Insgesamt* liefern die Befunde erste Evidenz für angst- und stressreduzierende Effekte zentral wirksamen Insulins und auch von IGF-1 bei Nagern.

Im Tierbereich wurde außerdem in einigen Versuchen das Verhalten der Tiere nach *experimenteller Inaktivierung zentraler IR* untersucht: Bei Ratten wurde nach selektiver, experimenteller Downregulierung von hypothalamischen IR durch das Lentivirus (sog. *NIRKO*-Tiere) in verschiedenen Versuchsanordnungen ein Depressions-ähnliches und ängstliches Verhalten der Tiere beobachtet: die *NIRKO*-Tiere zeigten einen signifikanten Anstieg an Immobilität im sogenannten *forced swim test* (ein Test, der die Reaktion von Versuchstieren auf die Gefahr des Ertrinkens untersucht) und gesteigertes Angstverhalten im *elevated plus maze* (Grillo et al., 2011). Auch im sogenannten *tail suspension test* (Test, bei dem die Immobilitäts-Zeit von am Schwanz gehaltenen Ratten gemessen wird) konnte ein - mit dem Alter zunehmendes - ängstliches Verhalten (Alter der Ratten: 10 Monate vs. 17 Monate) beobachtet werden (Kleinridders et al. (2015). Auf molekularer Ebene wiesen die Versuchstiere eine erhöhte Konzentration von Monoaminoxidase (MAO), eine Dysfunktion der Mitochondrien und einen gesteigerten Dopamin-Stoffwechsel im mesolimbischen System auf. Durch Gabe von MAO-Hemmern und dem trizyklischen Antidepressivum Imipramin, das zu einer Hemmung der MAO führt, konnten die depressiven Symptome der Versuchstiere rückgängig gemacht werden.

Cline et al. (2012) untersuchten bei Mäusen die Auswirkungen des Insulin-Sensitizers Dicholin Succinat: Über 10 Tage wurden die Versuchstiere standardisierten Stresssituationen ausgesetzt, die zu Depressions-ähnlichem und ängstlichem Verhalten führen. Die Gabe des Insulinsensitizers 7 Tage vor Beginn der Stressphase hatte protektive Effekte (gemessen in: Sukrose-Aufnahmetest, *light/dark box*, *forced swim test*) und milderte die Auswirkungen von Stress auf die Entwicklung von Depressions-ähnlichem und ängstlichem Verhalten.

### 1.7.2 Humanexperimentelle Daten

Es liegen – wenn auch noch sehr wenige Studien – aus dem Humanbereich vor, in denen gezeigt werden konnte, dass die intranasale Applikation von Insulin einen positiven Einfluss auf einzelne Indikatoren der Befindlichkeit hat, sowohl nach akuter als auch nach längerfristiger Gabe. Zur Operationalisierung wurde in den aufgeführten Studien die Befindlichkeit anhand der sog. Eigenschaftswörterliste (EWL) von Janke und Debus (1978) erfasst, ein mehrdimensionales Selbstbeurteilungsverfahren, das der Erfassung von (akuten) Zuständen dient: die EWL enthält Adjektive zur Beschreibung der aktuellen Befindlichkeit in 15 Skalen, die sechs Dimensionen erfasst (positiv: „Leistungsbezogene Aktivität“, „Extraversion/Introversion“, „Allgemeines Wohlbefinden“; negativ: „Allgemeine Desaktivität“, „Emotionale Gereiztheit“, „Angst“). Die Versuchspersonen stufen jedes Adjektiv hinsichtlich der empfundenen Intensität ab (s. auch 2.2.3 Subjektive Parameter/EWL).

Nach akuter Gabe von intranasalem Insulin (viermal 20 IE Insulin innerhalb von 60 Minuten) vs. Placebo beobachteten Kern et al. (1999) in einer Studie mit 18 gesunden Männern einen signifikanten Anstieg der Extraversion und eine signifikante Abnahme der Introversion.

In der unter 1.5.2 bereits referierten Arbeit von Hallschmid et al. (2008) mit übergewichtigen Männern konnten akute Effekte intranasalen Insulins Befindlichkeitsveränderungen im Sinne eines Rückgangs von negativen Befindlichkeitsfaktoren (signifikant für Introversion und Ängstlichkeit, tendenziell für Depressiertheit) und einem Anstieg positiver Faktoren (Konzentriertheit) beobachtet werden. Auch längerfristig hatte Insulin Effekte auf die Befindlichkeit: nach einer achtwöchigen Treatmentphase kam es zu einem tendenziellen Rückgang in der Subskala Ärger in der Insulin-Gruppe (die übrigen o.g. Effekte waren bei längerfristiger Insulingabe nicht mehr nachweisbar).

Auch in einer schon unter 1.5.2 dargestellten Studie von Benedict et al. (2004) wurde im Rahmen der achtwöchigen Verabreichung von intranasalem Insulin (viermal täglich 40 IE) oder Placebo die Befindlichkeit - ebenfalls anhand der EWL - erfasst. Die Gabe von Insulin (vs. Placebo) führte akut (nach der erstmaligen Insulingabe) zu einer Verbesserung der Werte in den Subskalen Selbstsicherheit und gehobene Stimmung und zu niedrigeren Werten bei der

Subskala Ärger. Außerdem erzielten Insulin behandelte Männer höhere Werte in der Subskala Extraversion, dies war bei den teilnehmenden Frauen nicht zu sehen. Auch nach mehrwöchiger Insulingabe zeigten die Insulin behandelten Teilnehmer einen positiven Trend bei der Befindlichkeit: die Werte für gehobene Stimmung und Selbstsicherheit waren nach Insulinbehandlung erhöht, auch die Werte für Extraversion waren – diesmal bei Männern und Frauen – erhöht. Die Werte für die Subskala Deprimiertheit waren bei den Insulin behandelten Männern und Frauen niedriger verglichen mit Placebo.

*Zusammenfassend* zeigen die referierten Arbeiten, dass Insulin bei zentralnervöser Verabreichung bei Tieren und intranasaler Gabe bei Menschen einen positiven Einfluss auf motivationale und emotionale Prozesse bzw. Befindlichkeit und Stimmung hat. Die positive Beeinflussung von zentralem Insulin auf ausgewählte Aspekte der Befindlichkeit bei Gesunden bietet auch in Hinblick auf mögliche Einflüsse bei vorliegenden depressiven Erkrankungen und Angststörungen einen interessanten Forschungsansatz (siehe Diskussion). Zunächst ist es aber notwendig, die Untersuchungen an Gesunden weiter auszuführen. In der vorliegenden Arbeit erfolgt deshalb – ebenfalls unter Verwendung der EWL - eine Erfassung der Befindlichkeit unter langfristiger Gabe von Insulin vs. Placebo bei Männern und freizyklisierenden Frauen. Um die Dauer öglicher Insulineffekte über das Treatment hinaus zu überprüfen erfolgten Messungen auch in einer insgesamt 8-wöchigen Follow-up Phase, wobei erstmals zusätzlich Konditionierungseffekte überprüft werden.

## 1.8 Östradiol: Gedächtnis und Befindlichkeit

Östrogene haben neben ihrer bekannten Funktion im Rahmen der Ausprägung von weiblichen Geschlechtsmerkmalen sowie der Regulation des Menstruationszyklus (im Zusammenspiel mit Gestagenen und den hypophysären Gonadotropinen FSH [Follikel stimulierendes Hormon] und LH [Luteinisierendes Hormon]) auch Effekte im ZNS. Es gibt vier Hauptformen von Östradiol (Östron [E1], 17 $\beta$ -Östradiol [E2], Östriol [E3], Östetrol [E4]), wobei dem 17 $\beta$ -Östradiol (E2) bei Frauen im reproduktiven Alter die größte Bedeutung zukommt. Da in der vorliegenden Studie Frauen dieser Gruppe untersucht werden, werden nachfolgend E2-Effekte adressiert. Natürliche Variationen des Östrogenspiegels zeigen sich im Menstruationszyklus: Die E2-Konzentration ist charakteristischerweise in der folliculären Phase zunächst sehr niedrig und steigt bis zur Ovulation an, wo sie ihren höchsten Wert erreicht, fällt dann in der anschließenden lutealen Phase ab, bleibt aber insbesondere in der mittlutealen Phase über dem folliculären Niveau. Mit Beginn der Menstruation erreicht das E2 die niedrigste Konzentration während des Zyklus. Postmenopausal sinkt der E2-Spiegel ab (Löffler, 2008; Glover et. al., 2013). Wie auch IR finden sich Östradiolrezeptoren (ER) u.a. in ZNS-Regionen, die maßgeblich an emotionalen

und gedächtnisassoziierten Prozessen beteiligt sind (zf. Gasbarri, Tavares, Rodrigues, Tomaz & Pompili, 2012). Für die vorliegende Arbeit sind daher Zusammenhänge zwischen zentral wirksamem Insulin und E2 von Interesse.

Östrogene können die BHS passieren und sind dabei im ZNS als Neuropeptide wirksam. Sie wirken an zwei Klassen von ER – ER- $\alpha$ - und ER- $\beta$  (Gasbarri et al., 2012; Stockhorst & Antov, 2016). Neben dem länger bekannten genomischen Weg existieren auch schneller wirksame, nicht genomische Signalkaskaden, die nach Binden von E2 an transmembrane ER ausgelöst werden (u.a. McEwen & Alves, 1999; McEwen & Milner, 2017). Auch bei Männern kommen endogene Östrogene u. a. im ZNS vor, die nach Umwandlung von Testosteron in E2 (durch das Enzym Aromatase) entstehen oder in der Nebennierenrinde gebildet werden (zf. Stockhorst & Antov, 2016). E2 interagiert im ZNS auch mit Neurotransmittern, v.a. Acetylcholin, Gamma-Amino-Buttersäure (GABA), Serotonin und Katecholaminen (Gasbarri et al., 2012).

Verschiedene Studien belegen, dass zentrales E2 kognitive Fähigkeiten und Befindlichkeit beeinflusst (zf. Gasbarri et al., 2012; Marrocco & McEwen, 2016; Shi & Clegg, 2009): ER befinden sich in hoher Dichte u.a. in ZNS-Regionen, die maßgeblich an emotionalen und gedächtnisassoziierten Prozessen beteiligt sind (v. a. Hippocampusregion, auch Amygdala und zerebraler Cortex, zf. Gasbarri et al., 2012). Exogen zugeführte Östrogene induzierten in verschiedenen Versuchsanordnungen (z. B. sog. *recognition memory tests* zur Wiedererkennung bestimmter Objekte oder Tests zur räumlichen Lokalisation) eine verbesserte kognitive Leistung bei männlichen und weiblichen Pbn (Luine, Serrano & Frankfurt, 2018). Auch unter physiologischen Bedingungen, also ohne exogene Gabe von E2, sind E2-Effekte auf das Gedächtnis von Bedeutung: Sherwin (2012) verweist in einer Übersichtsarbeit auf Studien, in denen gezeigt werden konnte, dass verschiedene Gedächtnisparameter im Laufe des Zyklus schwanken: während der folliculären Phase - die mit niedrigen E2-Spiegeln einhergeht - wurden bessere Ergebnisse in der räumlichen Merkfähigkeit erzielt, die im Allgemeinen von Männern besser geleistet wird. Während der Lutealphase hingegen - die mit höheren E2-Spiegeln (und auch höheren Progesteronspiegeln) einhergeht - erzielten die Pbn bessere Ergebnisse in Tests zu Sprachkompetenz, Feinmotorik und Wahrnehmungsgeschwindigkeit.

Der ausgeprägte Abfall des E2-Spiegels durch prämenopausale Ovariectomie geht auch mit Veränderungen kognitiver Leistungen einher: bei den betroffenen Frauen liegt ein erhöhtes Risiko für kognitive Defizite und dem Entstehen einer Demenz-Erkrankung vor (Bove et al. 2014). Es gibt Hinweise, wonach eine E2-Ersatztherapie bei dieser Östrogenmangelsituation einen günstigen Effekt für kognitive Fähigkeiten bei Menschen und Tieren aufweist (zf. Gonzales, Diaz & Alonso, 2008). Antov und Stockhorst (2018) berichten einen (neuro)protektiven Effekt von E2 auch im Hinblick auf mögliche stressinduzierte Gedächtnisdefizite: Mittzyklische

Frauen - mit somit vergleichsweise hohen E2-Werten - reagierten weniger anfällig auf die negativen Effekte eines psychosozialen Stressors, der vor der Enkodierung einer deklarativen Gedächtnisaufgabe verabreicht wurde, als Frauen in der frühen folliculären Phase und Männer (jeweils niedrige E2-Werte).

Zudem ist mittlerweile bekannt, dass die Höhe des E2-Spiegels speziell mit Merkmalen des Gedächtnisses für emotionale Inhalte assoziiert ist: In einer Studie von Nielsen, Ahmed und Cahill (2013) konnte gezeigt werden, dass sowohl das Geschlecht per se, als auch die Höhe des E2-Spiegels (Menstruationszyklus abhängig) mit Veränderungen des Gedächtnisses für emotionale (im Vergleich zu neutralen) Gedächtnisinhalten einhergeht: ein höherer E2-Spiegel war mit einer verbesserten Gedächtnisleistung beim Abruf speziell emotionaler Gedächtnisinhalte assoziiert.

Auch im Zusammenhang mit dem Prämenstruellen Syndrom (PMS) wird häufig ein Einfluss von E2-Schwankungen diskutiert (Sundström Poromaa & Gingell, 2014). PMS beginnt in der späten Lutealphase, in der es zu einem Abfall der E2-Konzentration kommt und geht – bei Auftreten des Syndroms – charakteristischerweise mit einer Reihe emotionaler Veränderungen wie depressiver Verstimmung, Angstgefühlen, Angespanntheit, erhöhtem Auftreten von Wutgefühlen und Konflikten, Interessenverlust einher (Petersen et al., 2016). Obwohl ein Zusammenhang zwischen endokrinologischen Veränderungen, wie sie im Menstruationszyklus auftreten, und PMS naheliegend ist, sind die genauen Pathomechanismen des PMS bislang nicht genau geklärt.

In einer Metaanalyse konnten auch gezeigt werden, dass perimenopausale Frauen anfälliger für das Entstehen depressiver Symptome sind als prämenopausale Frauen (de Kruif, Spijker und Molendijk, 2016). Eine naheliegende Erklärung hierfür wird in dem perimenopausalen Abfall des E2 vermutet (zf. Freeman, Sammel, Boorman & Zhang, 2014), auch hier sind genaue Pathomechanismen allerdings bislang nicht bekannt.

*Zusammenfassend* verdeutlichen die geschilderten Studien, dass E2 (in Ergänzung der typischen Wirkungen von Östrogenen auf die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse) Funktionen im ZNS hat und hierbei – wie auch Insulin - insbesondere Gedächtnisleistung und Befindlichkeit modifiziert.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit ist deshalb auch von Interesse, ob sich insulininduzierte Effekte in den peripheren Östradiolspiegeln ergeben und ob korrelative Zusammenhänge zwischen insulininduzierten Gedächtnisveränderungen bzw. Befindlichkeitseffekten (durch intranasales Insulin) und den aktuell vorliegenden peripheren E2-Spiegeln einstellen, also etwa, ob die erwarteten, zentralnervös vermittelten gedächtnisfördernden Effekte von Insulin durch

einen hohen peripheren E2-Spiegel begünstigt werden. U. a. deshalb wurde für die vorliegende Studie festgelegt, dass nur freizyklisierende Frauen (also ohne hormonelle Kontrazeption) in die Untersuchung eingeschlossen wurden.

## 1.9 Klassische Konditionierung von Insulineffekten

Das Lernprinzip der klassischen Konditionierung geht auf den russischen Physiologen Iwan Pawlow (1849-1936) zurück. In verschiedenen Versuchsanordnungen zeigte er, dass ein ursprünglich neutraler Stimulus (NS) durch die Kopplung mit einem unkonditionierten Stimulus (US) die Eigenschaften eines konditionierten Stimulus (CS) erwerben und US-ähnliche Reaktionen auslösen kann. Ein US besitzt die Fähigkeit, eine ungelernte – also unkonditionierte, natürliche - Reaktion auszulösen (z. B. führt der US „Futter/Nahrung“ zu einer unkonditionierten/natürlichen Reaktion „Speichelfluss“). Ein konditionierter Stimulus (CS) ist ein Reiz, der durch Lernen entstanden ist und eine konditionierte Reaktion auslöst (z.B. wird vor dem „Futter/Nahrung“ ein neutraler Reiz, wie ein „Glockenton“, dargeboten, kann nach mehrmaliger Wiederholung schon der Glockenton allein ausreichend sein, um den Speichelfluss anzuregen, also eine konditionierte Reaktion hervorrufen).

Im Falle von Insulin liegen Studien vor, die zeigen konnten, dass endokrine Reaktionen nach peripherer Insulingabe klassisch konditionierbar sind (u.a. Stockhorst, Steingrüber & Scherbaum, 2000; Stockhorst et al., 2004; Stockhorst et al., 2011b, vgl. auch 1.6). Stockhorst et al. (2011a) konnten zeigen, dass Effekte, die unter intranasaler Insulingabe als unkonditionierte Effekte entstanden waren (Abnahme des BZ im euglykämischen Bereich, Zunahme des Insulinspiegels) zum Teil auch als konditionierte Effekte (konditionierter Insulinstieg) erhalten blieben. Insulin fungiert als US, das Nasenspray als solches sowie der damit verbundene olfaktorische Reiz (teerähnlicher Geruch des Konservierungstoffes meta-cresol, auch in der Placebolösung enthalten) fungiert als CS.

Auch in der vorliegenden Arbeit werden Effekte klassischer Konditionierung im Bereich der Befindlichkeit adressiert. Es wird untersucht, ob die erwarteten Effekte, die unter intranasalem Insulin (als US wirksam) entstehen, auch als konditionierte Effekte im Follow-up erhalten bleiben. Dazu sprühten je 50% der im Treatment Insulin behandelten und Placebo behandelten Pbn im Follow-up entweder Placebo (das Sprühen und der Geruch des Placebos sollten bei den Insulin behandelten Pbn als CS wirken) oder es erfolgte keine Substanzgabe.

In der vorliegenden Arbeit wird auf mögliche Konditionierungseffekte im Bereich der Befindlichkeit eingegangen. Zu anderen Bereichen siehe Blicke (2009): zusätzliche Erhebung

potenzieller Konditionierungseffekte für Kilokalorienaufnahme, Korrelation zwischen Kilokalorienaufnahme und BMI, Differenz des Hüftumfangs, Aufmerksamkeit.

## 1.10 Fragestellungen und Hypothesen

Es werden folgende Fragestellungen und Hypothesen formuliert.

### *Gedächtnis*

- F1 a:* Fördert die längerfristige intranasale Insulinapplikation (8-wöchiges Treatment mit täglich dreimaliger Applikation) im Vergleich zu Placebo die deklarative Gedächtnisleistung bei gesunden Pbn?
- H1 a:* Längerfristig intranasal verabreichtes Insulin verbessert im Vergleich zu Placebo die deklarative Gedächtnisleistung bei gesunden Pbn.
- F1 b:* Zeigt sich eine differentielle Sensitivität im Sinne einer deutlicheren Verbesserung der Gedächtnisleistung durch Insulin vs. Placebo bei Frauen?
- H1 b:* Aufgrund der bisher vorliegenden Daten zur geschlechtsspezifisch differentiellen Sensitivität von zentralem Insulin vs. Placebo auf das deklarative Gedächtnis nach Akutgabe, wird auch bei langfristiger Gabe ein verbesserter Abruf der Gedächtnisinhalte nach intranasaler Insulingabe (vs. Placebogabe) insbesondere bei Frauen erwartet.

### *Explorative Fragestellungen*

- F1 c:* Im Sinne einer explorativen Zusatzanalyse wird geprüft, ob sich Unterschiede in der Gedächtnisleistung ergeben zwischen *einer zusätzlichen akuten Insulingabe* und dem Effekt der *rein kumulierten Insulinwirkung* (dazu Datengruppierung Insulin/Placebo Sprühen unmittelbar vor dem Lernen des jeweiligen Gedächtnisuntertests [und Abruf der Gedächtnisleistung 14 Minuten später, im Zustand der zusätzlichen akuten Insulinwirkung] vs. Sprühen erst nach Lernen und Abruf der Gedächtnisleistung [und damit Erfassung der kumulierten Wirkung der Insulingabe der bis dahin mehrwöchigen Insulindosis]).
- H1 c:* Im Sinne der explorativen Fragestellung kennzeichnen Unterschiede zwischen diesen Zeitpunkten die Bedeutung einer zusätzlichen akuten Gabe, während fehlende Unterschiede zwischen den Testleistungen die Bedeutung der langfristigen kumulierten Insulinwirkung gegenüber den akuten Wirkungen nahelegen.

*F1 d:* Im Sinne explorativer korrelativer Zusatzanalysen wird geprüft:  
Wie ist der *periphere Insulinspiegel mit der Gedächtnisleistung korreliert* und unterscheiden sich die Gruppe der Insulin behandelten von den Placebo behandelten Pbn (Gesamtgruppe)?  
Ergeben sich dabei differentielle Effekte beim getrennten Vergleich der Insulin behandelten vs. Placebo behandelten Männer und Frauen?

Wie ist der *periphere Östradiolspiegel mit der Gedächtnisleistung korreliert*, unterschieden nach der Gruppe der Insulin behandelten und Placebo behandelten Männer und Frauen?

*H1 d: Korrelative Zusatzhypothesen:*

a) Infolge intranasaler Insulingabe zeigen sich positive Korrelationen zwischen peripherem Insulinspiegel und Gedächtnisleistung. Der Effekt manifestiert sich dabei auch in einem Gruppenunterschied der Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe sowohl für die Gesamtgruppe als auch getrennt für Männer und Frauen.

b) Es wird erwartet, dass die zentralnervös vermittelten gedächtnisfördernden Effekte von Insulin durch einen hohen Östradiolspiegel begünstigt werden. Es wird somit eine positive Korrelation zwischen peripherem Östradiolspiegel und der Gedächtnisleistung vorhergesagt. Der Effekt manifestiert sich dabei auch in einem Gruppenunterschied der Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe für Männer und Frauen.

*Blutzucker und periphere Hormonspiegel*

*Blutzucker (BZ)*

*F2:* Führt die längerfristige intranasale Insulinapplikation im Vergleich zu Placebo zu einer Veränderung des BZ (im Vergleich zur Baseline)?

*H2:* Längerfristig intranasal verabreichtes Insulin führt zu einer Senkung des BZ unter Beibehaltung einer Euglykämie sowohl bei der Gesamtgruppe als auch getrennt für Männer und Frauen.

*F3:* Führt die längerfristige intranasale Insulinapplikation im Vergleich zu Placebo zu einer Veränderung des peripheren Insulinspiegels (im Vergleich zur Baseline)?

*H3:* Längerfristig intranasal verabreichtes Insulin führt im Vergleich zu Placebo zum Anstieg des peripheren Insulinspiegels sowohl bei der Gesamtgruppe als auch getrennt für Männer und Frauen.

## Östradiol

- F4:** Führt die längerfristige intranasale Insulinapplikation im Vergleich zu Placebo zu einer Veränderung des peripheren Östradiol-Spiegels a) bei männlichen und b) bei weiblichen Versuchsteilnehmern (im Vergleich zur Baseline)?
- H4:** Längerfristig intranasal verabreichtes Insulin führt im Vergleich zu Placebo zu einer Veränderung des Östradiolspiegels a) bei Männern und b) Frauen (zweiseitige Hypothese).

## Befindlichkeit

- F5 a:** Fördert die längerfristige intranasale Insulinapplikation (8-wöchiges Treatment mit täglicher Applikation) im Vergleich zu Placebo die Befindlichkeit (im Sinne höherer Werte in Dimensionen positiver Befindlichkeit und geringerer Werten negativer Befindlichkeit)?
- H5 a:** Längerfristig intranasal verabreichtes Insulin führt im Vergleich zu Placebo zu einer Verbesserung der Befindlichkeit (mit höheren Werten in den positiven Befindlichkeitsdimensionen und geringeren Werten in den negativen Dimensionen).
- F5 b:** Zeigt sich eine differentielle Sensitivität im Sinne einer Verbesserung der Befindlichkeit durch Insulin vs. Placebo bei Männern und Frauen (im Sinne höherer Werte in Dimensionen positiver Befindlichkeit und geringeren Werten negativer Befindlichkeit)?
- H5 b:** Sowohl in der Gruppe der Männer als auch der Frauen werden höhere Werte in Dimensionen positiver Befindlichkeit und geringere Werte in Dimensionen negativer Befindlichkeit nach intranasaler Insulingabe im Vergleich zu Placebo erwartet.

## Explorative Fragestellungen

- F 5 c:** Im Sinne explorativer korrelativer Zusatzanalysen wird geprüft:
- Wie ist der *periphere Insulinspiegel mit der Befindlichkeit korreliert* und unterscheiden sich die Gruppe der Insulin behandelten von den Placebo behandelten Pbn (Gesamtgruppe)? Ergeben sich dabei differentielle Effekte beim getrennten Vergleich der Insulin behandelten vs. Placebo behandelten Männer und Frauen?
  - Wie ist der *periphere Östradiolspiegel mit der Befindlichkeit korreliert*, unterscheiden nach der Gruppe der Insulin behandelten und Placebo behandelten Männer und Frauen?

Die Fragestellungen sind explorativ, da bisher keine Daten zu dieser Fragestellung vorliegen.

*H 5 c: Korrelative Zusatzhypothesen:*

- 1) Es wird angenommen, dass die zentralnervös vermittelten Insulineffekte im Sinne einer Verbesserung der Befindlichkeit durch den peripheren Insulinspiegel begünstigt werden. Dabei verwendet die vorliegende Arbeit – aufgrund der deutlich geringeren Invasivität – Insulinwerte im Serum (und nicht etwa in der CSF). Trotz der Einschränkungen einer ggf. nur geringen Korrelation zwischen peripheren und zentralen Spiegel (vgl. Martin, Plank, Jungwirth, Hapfelmeier, Podtschaske & Kagerbauer, 2019 gezeigt für Sexualhormone) werden in Folge der Insulingabe positive Korrelationen zwischen peripherem Insulinspiegel und Befindlichkeit für die positiven Befindlichkeitsdimensionen und negative Korrelationen mit den Dimensionen negativer Befindlichkeit erwartet. Der Effekt sollte sich auch im Intergruppenvergleich der Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe sowohl für die Gesamtgruppe und auch getrennt für Männer und Frauen zeigen.
- 2) Es wird angenommen, dass die zentralnervös vermittelten Insulineffekte im Sinne der Verbesserung der Befindlichkeit durch einen hohen Östradiolspiegel begünstigt werden. Es wird eine positive Korrelation zwischen peripherem Östradiolspiegel und positiven Befindlichkeitsdimensionen bzw. eine negative Korrelation in Dimensionen negativer Befindlichkeit erwartet. Die Auswertung erfolgt gesondert für Männer und Frauen.

Die Fragestellungen unter 5c zu den o.g. Korrelationen sind explorativ, da hierzu bislang keine publizierten Daten vorliegen. Wenngleich z. T. gerichtete Hypothesen formuliert wurden (s. Zusammenhang Insulinspiegel und Befindlichkeit), erfolgt statistisch eine zweiseitige Prüfung der Koeffizienten.

*Zusatzanalyse zur klassischen Konditionierung:*

*F 6:* Sind die durch Insulin entstandenen Effekte auf die Befindlichkeit klassisch konditionierbar? Um klassisch konditionierte Effekte intranasalen Insulins zu untersuchen, erhielt die Hälfte der Probanden jeder Gruppe unter den bisherigen Umgebungsbedingungen im Follow-up weiterhin Nasenspray mit Placebo, die übrigen Pbn bekamen keine Substanz mehr. Es erfolgte eine Gegenüberstellung von Subgruppen anhand der Sprühbedingung im Follow-up (Vergleich EG und KG, die jeweils im Follow-up Placebo weitersprühten [Ins/Plac vs. Plac/Plac]). Zur Kontrolle erfolgt nur zur Deskription auch der Vergleich der Teilgruppen innerhalb der EG [Ins/Plac vs. Ins/ -].

*H6:* Die erwarteten Effekte zentralen Insulins auf die Befindlichkeit sind klassisch konditionierbar. Es ist zu erwarten, dass nur in der Versuchsgruppe, die zunächst Insulin erhalten hat, die Umgebungsreize zu konditionierten Stimuli geworden sind und diese auch unter Placeboverabreichung im Follow-up insulinähnliche Befindlichkeitseffekte im Vergleich zu der entsprechend behandelten Subgruppe der Placebogruppe (Vergleich Ins/Plac vs. Plac/Plac) hervorrufen.

## 2 Material und Methoden

Die im Rahmen dieser Dissertation dargestellten Ausführungen sind Teil eines DFG-Projekts (DFG STO 323/1-2) zur Untersuchung der akuten und Langzeiteffekte von intranasalem Insulin auf Essverhalten/Körpergewicht, endokrine Parameter (Insulin, Östradiol, Cortisol, Leptin, BZ), kognitive Funktionen (Aufmerksamkeit, Gedächtnis), subjektive Parameter (Symptome, Befindlichkeit, Substanzwahrnehmung), physiologische Parameter (Blutdruck, Körpergewicht und -zusammensetzung) und Schlaf. Aus dem Projekt sind bisher folgende Dissertationen hervorgegangen: Blicke (2009, Mathematisch-naturwissenschaftliche Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Daten der Akut- und Längsschnitterhebung) und Löhr (2016, Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Daten der Akuterhebung).

### 2.1 Versuchsplan und (quasi-) unabhängige Variablen

Nach einem 2 x 2 faktoriellen Versuchsplan wurden die teilnehmenden Pbn vier unabhängigen Gruppen zugeteilt (siehe Tabelle 1). Die Abkürzung Pbn wird zur Kennzeichnung der teilnehmenden Männer und Frauen verwendet. Als experimentelle unabhängige Variable diente die Art der verabreichten Substanz in den Stufen Insulin vs. Placebo - es wurden die Effekte von intranasal verabreichtem Insulin den Effekten von intranasal appliziertem Placebo gegenübergestellt. Quasiexperimenteller Faktor war das Geschlecht (männlich/weiblich). Der Versuch wurde unter Doppelblindbedingungen durchgeführt. Die Längsschnittstudie erstreckte sich insgesamt über einen Zeitraum von 16 Wochen: eine 8-wöchige Treatmentphase (mit experimenteller Variablen der Substanzgabe) und eine 8-wöchige Follow-up-Phase, in der überdauernde Effekte und auch mögliche Konditionierungseffekte untersucht wurden. Es wurden insgesamt 22 gesunde männliche und 22 gesunde weibliche Pbn untersucht. Innerhalb der Gruppen der männlichen und weiblichen Pbn erfolgte eine randomisierte Zuteilung zur Art der verabreichten Substanz (Insulin oder Placebo).

Vor Beginn der Längsschnittuntersuchung hatten die Pbn bereits an der sogenannten Akutstudie des o. g. DFG-Projekts teilgenommen. Während dieser einmaligen Laborsitzung erhielten die Pbn sechsmal im Abstand von 15 Minuten entweder 20 IE Insulin oder 0.2 ml Placebo jeweils intranasal (vgl. auch Blicke, 2009; Löhr, 2016). In der sich anschließenden und hier dargestellten Längsschnitterhebung (vgl. auch Blicke, 2009) blieb die Substanzbedingung aus der Akutstudie erhalten, d.h. alle Pbn, denen in der Akutstudie Insulin verabreicht wurde, erhielten im Treatment der Langzeituntersuchung Insulin, alle Pbn, denen in der Akutstudie

Placebo verabreicht wurde, erhielten im Längsschnitt Placebo. Dabei nahmen von den insgesamt 63 Pbn der Aktstudie noch 44 Pbn an der Längsschnittstudie teil.

Tabelle 1: *Versuchsplan: Längsschnittstudie über 8 Wochen mit anschließender Follow-up-Untersuchung über weitere 8 Wochen (Woche 9 - 16).*

Intranasal applizierte Substanz (Woche 1-8)	Geschlecht		Follow-up (Woche 9-16)
	männlich	weiblich	
Insulin (intranasal)* 3x tgl. 20 IE (= 0.2 ml)	n = 11	n = 11	50% der Pbn Placebo <sup>a</sup>  50% der Pbn: keine intranasale Gabe <sup>b</sup>
Placebo (intranasal)* 3x tgl. 20 IE (= 0.2 ml)	n = 11	n = 11	50% der Pbn: Placebo <sup>c</sup>  50% der Pbn: keine intranasale Gabe <sup>d</sup>

*Anmerkungen:* CS: konditionierter Stimulus, IE: Internationale Einheiten, Pbn: Probanden, tgl.: täglich, US: unkonditionierter Stimulus

\*: jeweils 20 Minuten vor den drei Hauptmahlzeiten.

<sup>a, b, c, d:</sup> Weiterführung einer Substanzgabe ermöglicht die Prüfung von konditionierten, CS-induzierten Konditionierungseffekten, die nur in der zuvor Insulin behandelten Gruppe eintreten sollten, die eine Paarung zwischen dem CS (Geruch von meta-cresol) und dem US (intranasales Insulin) in der Treatmentphase erhalten hat.

Die Stufen der experimentellen unabhängigen Variablen wurden folgendermaßen operationalisiert:

*Insulin* (Humaninsulin U100, Insulin Insuman Rapid® Hoechst mit m-Cresol 20 IE Applikation) als Nasenspray wurde von den Pbn dreimal täglich, jeweils 20 Minuten vor den drei Hauptmahlzeiten, selbst verabreicht. Dazu erhielt jeder Pbn pro Versuchswoche 2 Nasensprayflaschen mit je 5 ml Insulin/Placebo. Die Pbn sprühten dabei pro Applikationszeitpunkt in das linke und in das rechte Nasenloch, wobei die Sprühabfolge (links/rechts oder rechts/links) zwischen den Pbn ausbalanciert war und konstant blieb. Die Verabreichung des Nasensprays erfolgte nach standardisierten Anweisungen, die den Pbn vor Beginn der Studie mitgeteilt wurden (vgl. Anhang A 05).

*Als Placebo* diente der Verdünnungspuffer HOE 31 mit m-Cresol; 0.2 ml/Applikation als Nasenspray. Dieses geruchlich zu der Insulinlösung identische Spray applizierten sich die Pbn ebenfalls dreimal täglich selbst, jeweils im 20-minütigen Abstand vor den drei Hauptmahlzeiten. Auch hier sprühten die Pbn nach standardisierten Anweisungen, die Sprühabfolge wurde

hier ebenfalls ausbalanciert. Das Gewicht der Sprühflaschen wurde von den Versuchsleiterinnen protokolliert (bei Übergabe vor jeder Längsschnittwoche und bei Rückgabe). An den Tagen mit Laborsitzung verabreichten sich die Pbn das Spray morgens während der Laborsitzung, die erste Hauptmahlzeit fand an den Labortagen erst nach dem Versuchstermin statt.

In der *Follow-up-Phase* (Wochen 9-16), die sich an die Treatmentphase anschloss, sollten zum einen die Langzeiteffekte einer 8-wöchigen Insuligabe und zusätzlich auch der Effekt von klassischer Konditionierung untersucht werden. Daher sprühten jeweils 50% der Pbn, die zuvor 8 Wochen Insulin gesprüht hatten, und 50% der Pbn, die zuvor 8 Wochen Placebo gesprüht hatten, weiter ein Nasenspray, und zwar jeweils das Placebo. Dabei blieben Applikationszeitpunkte und Volumen gleich. Nur in der Gruppe mit Insulinvorerfahrung sollte das im Placebo enthaltene meta-Cresol die Eigenschaft eines CS erhalten, um mögliche Insulin assoziierte Konditionierungseffekte zu beobachten.

Zusätzlich wurde noch eine Untergruppierung anhand des BMI der Pbn angestrebt, um die Rolle des BMIs auf die zentralen Insulinwirkungen untersuchen zu können. Die Unterteilung erfolgte bei Männern und Frauen in vier Gruppen: BMI < 20 kg/m<sup>2</sup> (Insulin n = 4; Placebo n = 6), BMI 20 bis 24,9 kg/m<sup>2</sup> (Insulin n = 11; Placebo n = 10), BMI 25 bis 29,9 kg/m<sup>2</sup> (Insulin n = 6; Placebo n = 5), BMI > 30 kg/m<sup>2</sup> (Insulin n = 1; Placebo n = 1). Aufgrund der ungleichen Zellbesetzungen konnte allerdings keine weitere Subanalyse vorgenommen werden.

## 2.2 Abhängige Variablen

Im Rahmen der Längsschnitterhebung wurden die Parameter deklaratives Gedächtnis, BZ, endokrine Parameter (Insulin, Östradiol) und subjektive Parameter (Befindlichkeit) im Zeitverlauf von 16 Wochen als abhängige Variablen untersucht. Zu den übrigen Parametern siehe Blicke (2009).

### 2.2.1 Deklaratives Gedächtnis

Zur Erfassung der deklarativen Gedächtnisleistung wurden der Lern- und Gedächtnistest (LGT-3) von Bäumlner (1974) sowie der visuelle und verbale Merkfähigkeitstest (VVM) von Schellig und Schächtele (2001) verwendet und zu 11 Messzeitpunkten während der Laborsitzungen erhoben (Woche 1-9, 12 und 16). Der LGT-3 besteht aus 6 Untertests (im Folgenden als UT abgekürzt) hiervon wurden in der vorliegenden Studie 5 UTs mit ihren Parallelförmungen A und B eingesetzt. Als Test für die 11. Messung wurde der UT „Stadtplan“ (Version A) des VVM eingesetzt. Im vorliegenden Studiendesign wurde explizit darauf geachtet, verschiedene Bereiche des deklarativen Gedächtnisses zu prüfen (LGT-3: 3 Untertests mit vorrangiger

Ladung auf dem *verbalen* Gedächtnis [UT Gegenstände, UT Telefon, UT Bau], 2 Untertests auf dem Faktor *figurales* Gedächtnis [UT Stadtplan, UT Firmenzeichen], VVM Stadtplan: *figurales* Gedächtnis). In den „ungeraden“ Treatmentwochen (1, 3, 5, 7, 9) und in Follow-up Woche 16 verabreichten sich die Pbn das Nasenspray in Minute 20 der Laborsitzung, also drei Minuten *vor* dem Lernen und 14 Minuten vor Abruf des Gelernten. In den übrigen Wochen (2, 4, 6, 8 und 12) wurde erst in Minute 43 gesprüht, also *nach* Lernen und Abruf des Gelernten. Durch die unterschiedlichen zeitlichen Lokalisationen der Substanzgabe wurde es somit möglich, zusätzliche akute Effekte des Insulins (Substanzgabe in Minute 20) mit reinen Langzeit-, bzw. kumulierten Insulineffekten (Substanzgabe erst in Minute 43 nach bereits erfolgter Gedächtnisleistung) bei Insulin vs. Placebo behandelten Pbn zu differenzieren. Die mittlere Paralleltestreliabilität (gewonnen in den Stichproben Studenten, Gymnasiasten, Berufsschüler) des LGT-3 liegt zwischen  $r = .51$  und  $r = .69$  (UT Stadtplan  $r = .51$ , UT Gegenstände  $r = .58$ , UT Telefon  $r = .60$ , UT Bau  $r = .69$ , UT Firmenzeichen  $r = .63$ ). Die durchschnittliche Behaltensstabilität nach 3-4 Wochen liegt zwischen  $r_{tt} = .47$  (UT Telefon) bis  $r_{tt} = .64$  (UT Firmenzeichen) und für den Gesamtpunktwert (Wertpunktsumme) bei  $r_{tt} = .71$ . Die allgemeine Zuverlässigkeit (ein Wert, der sich pro Untertest aus den unterschiedlichen Maßzahlen der Reliabilitätsberechnung [Paralleltest, durchschnittliche Behaltensstabilität über verschiedene Zeitfenster] berechnet) liegt zwischen  $r = .62$  und  $r = .78$  (UT Stadtplan  $r = .62$ , UT Gegenstände  $r = .71$ , UT Telefon  $r = .66$ , UT Bau  $r = .78$ , UT Firmenzeichen  $r = .77$ ). Die Zuverlässigkeit (operationalisiert über die innere Konsistenz [Cronbach's Alpha]) des Untertests Stadtplan (Form A) des VVM (Version A) beträgt:  $r = .86$ . Die UTs beinhalten im Einzelnen folgende Anforderungen, wobei zwischen Lernen und Abruf des Gelernten ein Abstand von 10 Minuten lag (vgl. Tabelle 2).

- Im UT Stadtplan musste ein eingezeichneter Weg in einem Stadtplan einprägt werden. Für den Abruf des Gelernten wurde der Plan ohne die Kennzeichnung des richtigen Weges vorgelegt, mit der Aufgabe, den Weg aus der Erinnerung einzuzeichnen.
- Im UT Gegenstände wurde den Pbn ein Bogen mit 20 einfach gezeichneten Gegenständen vorgelegt (u.a. ein Ball, eine Säge, ein Vogel), die eingeprägt und frei reproduziert werden mussten.
- Beim UT Telefon erhielten die Pbn eine Liste mit 13 jeweils dreistelligen Telefonnummern und zugehörigen Anschlussstellen (z. B. Bank, Sekretariat). Aufgabe war es, diese Nummern einzuprägen und anschließend zu reproduzieren.
- Beim UT Bau mussten sich die Pbn verschiedene Angaben aus einem kurzen Text merken, zum Beispiel bestimmte Namen, Zahlen und Begriffe zum Bau einer Bibliothek und eines Krankenhauses.

- Im UT Firmenzeichen sollten sich die Pbn Umrandungen von 20 verschiedenen abstrakten Firmenzeichen merken. Für den Abruf des Gelernten wurden die Firmenzeichen ohne Umrandung dargeboten, die Pbn mussten aus vier verschiedenen Möglichkeiten die passende Umrandungsform auswählen.
- Beim UT Stadtplan des VVM handelte es sich - wie schon im UT Stadtplan des LGT-3 - um einen eingezeichneten Weg in einem Plan. Dieser Weg sollte gelernt und anschließend in einer leeren Vorlage des Stadtplans eingezeichnet werden.

Da der UT Stadtplan besonders gut zur Überprüfung des hippocampusabhängigen Gedächtnisses geeignet ist, wurde er insgesamt dreimal durchgeführt. Tabelle 2 gibt eine Übersicht über die UTs sowie Zeitpunkt der Durchführung und Dauer von Instruktion, Lernen und Abruf des Gelernten.

Tabelle 2: *Übersicht der Testversionen des LGT-3 (Woche 1-12) und des VVM (Woche 16) zur wöchentlichen Messung der Gedächtnisleistung.*

Woche	Version	UT	Sprühzeitpunkt	Dauer Lernen (Start Minute 23)	Dauer Abruf (Start Minute 34)
1	A	Stadtplan	Minute 20	1 Minute	2 Minuten
2	A	Gegenstände	Minute 43	1 Minute	2 Minuten
3	A	Telefon	Minute 20	2 Minuten	2 Minuten
4	A	Bau	Minute 43	1 Minute	4 Minuten
5	A	Firmenzeichen	Minute 20	1 Minute	4 Minuten
6	B	Stadtplan	Minute 43	1 Minute	2 Minuten
7	B	Gegenstände	Minute 20	1 Minute	2 Minuten
8	B	Telefon	Minute 43	2 Minuten	2 Minuten
9	B	Bau	Minute 20	1 Minute	4 Minuten
12	B	Firmenzeichen	Minute 43	1 Minute	4 Minuten
16	A	VVM, Stadtplan	Minute 20	1 Minute	2 Minuten

*Anmerkungen:* LGT-3: Lern- und Gedächtnistest (Bäumler, 1974), UT: Untertest, VVM: visueller und verbaler Merkfähigkeitstest (Schellig & Schächtele, 2001).

### 2.2.2 Blutzucker und Endokrine Parameter

Um zu untersuchen, ob die intranasale Applikation - und somit die zentrale Wirkung von Insulin - den peripheren BZ beeinflusst, wurde einmal während jeder Laborsitzung und durch tägliche kapilläre Messung zuhause der BZ bestimmt.

*Erfassung im Labor:* Einmal während der Laborsitzung (Minute 41) wurde Blut abgenommen. 20µl wurden in ein mit Hämolytat gefülltes Eppendorf Reagiergefäß gegeben und mit Hilfe des Eppendorf Analyzer (Typ: EPOS, Modell 5060) im Labor des Deutschen Diabeteszentrum Düsseldorf bestimmt.

*Erfassung zu Hause:* Außerhalb der Laborsitzungen führten die Pbn einmal täglich eine kapilläre BZ Selbstmessung durch. Das Vorgehen mittels das Accu-Check Aviva BZ Schnellmessgerät mit Teststreifen und der Accu-Check Multiclix zur Blutentnahme wurde den Pbn bei der Einführungsveranstaltung erklärt und eine standardisierte Anleitung wurde ausgehändigt (vgl. Anhang A 07.2). Den ermittelten BZ und den genauen Messzeitpunkt mussten die Pbn auf dem ihnen ausgehändigten Bogen zur Dokumentation des BZs (vgl. Anhang A 07.3) dokumentieren. Das Accu-Check Aviva Messgerät verfügt außerdem über eine Speicherfunktion, so dass die notierten BZ-Werte von den Versuchsleitern kontrolliert wurden und somit auch eine Überprüfung der Compliance möglich war.

Am Ende jeder Laborsitzung (Minute 41) erfolgte eine venöse Blutentnahme. Aus der gewonnenen Blutprobe wurden im Labor des Deutschen Diabetes Zentrums Seruminsulin, -östradiol, -cortisol und -leptin bestimmt. Dadurch sollte untersucht werden, ob die intranasale - und damit zentralnervöse Insulinwirkung - Auswirkung auf die peripheren Spiegel der o.g. Hormone und auch auf die Nahrungsregulation durch die dafür relevanten Hormone (Insulin, Leptin, Cortisol) hat. Im Folgenden wird nur auf Insulin und Östradiol eingegangen, zu den anderen Parametern siehe Blicke (2009). Die Bestimmungsmethoden für die Proben der Akut- und Längsschnittstudie waren identisch.

Die quantitative *Insulinserumkonzentration* wurde mit dem Gerät AxSym unter Verwendung des Assays AxSym® *Insulin* gemessen. Dabei handelt es sich um ein Mikropartikel-Enzymimmunoassay (MEIA) zur quantitativen Bestimmung von Insulin in Humanserum und -plasma, dass eine Konzentrationsbestimmung von Insulin auf  $\leq 1,0 \mu\text{E Insulin/ml}$  ermöglicht.

Die quantitative *Östradiolbestimmung* erfolgte durch Messung mit dem Gerät AxSym unter Verwendung des Assay AxSym® *Estradiol*. Bei der zugrunde liegenden Reaktion handelt es sich ebenfalls um die Technik des MEIA. Die Sensitivität dieses Verfahrens liegt bei  $\leq 28 \text{ pg/dl}$ .

### 2.2.3 Subjektive Parameter

In den Laborsitzungen sowie teilweise zu Hause wurden als subjektive Parameter Befindlichkeit, Symptome und Substanzwahrnehmung untersucht.

#### *Befindlichkeit*

Um das aktuelle Befinden der Pbn standardisiert zu messen, erhielten die Pbn in jeder Laborsitzung die Eigenschaftswörterliste (EWL 60-S) von Janke und Debus (1983) (vgl. Anhang A 06.5). Die EWL 60-S ist ein mehrdimensionales Verfahren und dient der Erfassung des Befindens in Abhängigkeit von Interventionen (hier: die intranasale Substanzverabreichung) und erlaubt die Messung von Veränderungen anhand von Selbstbeurteilung. Die EWL 60-S, eine Kurzform der EWL (Janke & Debus, 1978) enthält Adjektive zur Beschreibung der aktuellen Befindlichkeit, untergliedert in je drei Dimensionen positiver und negativer Befindlichkeit, bestehend aus insgesamt 15 Subskalen mit insgesamt 60 Adjektiven (Items). Die Aufgabe der Pbn war, jedes der Adjektive hinsichtlich der empfundenen Intensität in den vier Stufen „gar nicht“ (0), „etwas“ (1), „ziemlich“ (2) bis „stark“ (3) abzustufen. Schriftlich erhielten die Pbn die Anweisung, nur das augenblickliche Befinden zu beurteilen, sich möglichst schnell zu entscheiden und kein Adjektiv auszulassen. Sollte ihnen die Antwort schwerfallen, wurden die Versuchspersonen angewiesen, sich für die Antwortmöglichkeit zu entscheiden, die am ehesten zutrifft. Für jede Subskala wurde ein Summenscore der jeweiligen Items und der empfundenen Intensität gebildet. Tabelle 3 und 4 geben einen Überblick über die positiven bzw. negativen Befindlichkeitsdimensionen mit zugehörigen Subskalen und Beispielwörtern (die Gütekriterien der EWL betragen: Validität: [ $r = .40$  bis  $r = .60$ ], Reliabilität: Innere Konsistenz (Cronbachs  $\alpha$ ) und Halbierungskoeffizienten zw.  $r = .70$  und  $r = .95$ ).

Tabelle 3: *EWL 60-S: Übersicht der positiven Dimensionen mit Subskalen und Beispielitems.*

Dimension	Subskalen	Beispielitems
Leistungsbezogene Aktivität	Aktiviertheit	tatkräftig, aktiv, energisch
	Konzentriertheit	aufmerksam, konzentriert, wachsam
Extraversion/Introversion	Extravertiertheit	gesprächig, zutraulich, offen
	Introvertiertheit	ungesellig, wortkarg, verschlossen
Allgemeines Wohlbehagen	Selbstsicherheit	selbstsicher, unbekümmert, sorgenfrei
	Gehobene Stimmung	heiter, gut gelaunt, angenehm

*Anmerkungen:* EWL 60-S: Eigenschaftswörterliste (Janke & Debus, 1983).

Tabelle 4: EWL 60-S: Übersicht der negativen Dimensionen mit Subskalen und Beispielitems.

Dimension	Subskalen	Beispielitems
Allgemeine Desaktivität	Desaktiviertheit	energielos, träge, lahm
	Müdigkeit	schläfrig, müde, erschöpft
	Benommenheit	dösig, benebelt, schlaftrunken
Emotionale Gereiztheit	Erregtheit	aufgeregt, kribbelig, verkrampft
	Empfindlichkeit	erregbar, empfindlich, verletzbar
	Ärger	ärgerlich, ungehalten, gereizt
Angst	Ängstlichkeit	ängstlich, beklommen, schreckhaft
	Deprimiertheit	traurig, trüb, sorgenvoll
	Verträumtheit	tiefsinnig, verträumt, gedankenverloren

Anmerkungen: EWL 60-S: Eigenschaftswörterliste (Janke & Debus, 1983).

In der hier vorliegenden Arbeit werden die o.g. Parameter (Gedächtnis, BZ, Insulin, Östradiol und Befindlichkeit) dargestellt. Im Gesamtprojekt wurden im Rahmen des Längsschnitts auch die folgenden Parameter untersucht (siehe auch Blicke, 2009):

#### *Symptome*

Zur Erfassung neuroglykopenischer und autonomer Symptome bekamen die Pbn einmalig pro Laborsitzung und täglich zu Hause einen Symptombogen (vgl. Anhang A 06.4). Anhand 20 verschiedener Items, für die die aktuelle Empfindungsstärke mittels Ratingskala angegeben wurde, wurden neuroglykopenische, autonome und andere Symptome (u.a. Hunger und Sättigung) erfasst (Stockhorst et al. 1999, 2004).

#### *Substanzwahrnehmung und Geruchsbewertung*

Der Geruch des Nasensprays wurde anhand einer Ratingskala für die Parameter Angenehmheit, Neuartigkeit und Intensität beurteilt (vgl. Anhang A 06.2) und hinsichtlich vermuteter Substanz (Insulin oder Placebo; vgl. Anhang A 06.3) eingestuft.

#### *Blutdruck*

In Minute 5 und Minute 40 der Laborsitzungen wurde der Blutdruck der Pbn mittels Riva-Rocci-Methode am rechten Oberarm gemessen (Blutdruckmessgerät Allyn Adult 11, Firma Welch).

#### *Essverhalten*

In den Wochen 1, 5, 9 und 16 fand am Ende der Laborsitzung eine standardisierte Testmahlzeit zur Erfassung der aufgenommenen Nahrungsmenge und der Essgeschwindigkeit statt (vgl. Anhang A 06.8). In den Wochen 1, 5, 8, 12 und 15 führten die Pbn ein dreitägiges Ernährungsprotokoll (vgl. Anhang A 07.4).

### *Körpergewicht und Körperzusammensetzung*

Während der Laborsitzungen wurden standardisiert Körpergröße, Gewicht, und Waist-to-Hip-Ratio (WHR) erfasst. In den Wochen 1, 9 und 16 erfolgte die Messung der Körperzusammensetzung (prozentualer Fettgehalt, prozentuale androide und gynoide Fettverteilung) mittels DEXA Scan (dual energy X-ray absorptiometry).

### *Aufmerksamkeit: Akustisch evozierte Potentiale*

In den Wochen 2, 7 und 12 wurde die Ableitung akustisch evozierter Potentiale vorgenommen: es wurden 300 Töne über einen Kopfhörer präsentiert, von diesen Tönen waren 10% Zieltöne (1064 Hz), auf die die Pbn reagieren sollten, der Rest waren Standardtöne von 1000 Hz (sog. Oddball-Paradigma). Zur Messung der hirnelektrischen Reizverarbeitung wurden 3 aktive Elektroden für die Ableitungsorte frontaler, zentraler und parietaler Bereich eingesetzt (Abmessung nach 10-20 Systems nach Jasper, 1958).

### *Schlaf*

In den Wochen 1, 5, 8, 12 und 15 wurde ein 7-tägiges Schlafprotokoll (vgl. Anhang A 07.6) geführt mit Dokumentation von Ein- und Aufwachzeiten, nächtlichen Wachzeiten und daraus berechnet die Gesamtschlafdauer.

## 2.3 Versuchsablauf

Die in dieser Arbeit berichtete Längsschnittstudie ist Teil einer Gesamtstudie (DFG STO 323/1-2), die aus drei Abschnitten besteht, wobei Abschnitt 1 und 2 (Anamnese und sog. Akutstudie) der Längsschnittuntersuchung vorangingen. Die einzelnen Abschnitte werden in den folgenden Unterpunkten genauer beschrieben:

### 2.3.1 Anamnese

Die Anamnesesitzung diente dem Zweck, die Ein- und Ausschlusskriterien unserer Studie zu überprüfen und die Studienteilnehmer detailliert über den Ablauf des Experiments aufzuklären (s. Anhang A 01). Hierfür erfolgten Befragung und körperliche Untersuchung (mit Wiegen und Messen), EEG-Ableitung mit akustisch evozierten Potentialen, Legen einer Venenverweilkannüle und daraus Blutentnahme zur Bestimmung von BZ, Insulin, Cortisol, Leptin und Östradiol, Ausfüllen eines Symptombogens und einer EWL 60-S.

### 2.3.2 Akutstudie

Die Akutstudie dauerte insgesamt 160 Minuten und untergliederte sich in eine 45-minütige Baselinephase (vor intranasaler Substanzgabe) und eine 115-minütige Treatmentphase (insgesamt sechsmal intranasale Substanzgabe je 20 IE). Untersucht wurden die akuten Effekte von Insulin vs. Placebo anhand folgender Parameter:

*Gedächtnisleistung:* zweimal während der Baselinephase und zweimal während der Treatmentphase (Abruf 6 Minuten nach dem Lernen) anhand des VVM Stadtplan (figurales Gedächtnis) und UT Bau (verbales Gedächtnis).

*Subjektive Parameter:* anhand des Symptombogens (insgesamt siebenmal) und EWL 60-S (insgesamt viermal).

*Aufmerksamkeit* mittels akustisch evozierter Potentiale: einmal vor Verabreichen der intranasalen Substanz und zweimal während der Treatmentphase.

*Blutdruck:* je einmal während der Baseline und während der Treatmentphase.

*Endokrine Parameter:* Insulin, Cortisol, Östradiol und Leptin im Serum einmal während der Baselinephase und sechsmal während der Treatmentphase, nach jeder intranasalen Substanzverabreichung.

*BZ:* viermal während der Baselinephase und 12-mal während der Treatmentphase.

*Essverhalten:* anhand einer standardisierten Testmahlzeit im Anschluss an den Versuch.

### 2.3.3 Einführung/Probewoche für die Längsschnittstudie

Vor Beginn der Längsschnittuntersuchung fand die Einführungsveranstaltung statt, die dazu diente, den Pbn die von ihnen geforderten Aufgaben während des Längsschnitts nahe zu bringen und diese Aufgaben drei Tage lang zu üben. Um eine zuverlässige Datengewinnung zu gewährleisten, wurden die Pbn angewiesen, die Aufgaben sorgfältig durchzuführen und zu dokumentieren. Dies beinhaltete das Ausfüllen von den bereits unter 2.2 beschriebenen Bögen/Protokollen (Symptombogen, Ernährungsprotokoll, Schlafprotokoll, Aktivitätsprotokoll). Außerdem erfolgte eine genaue Erklärung und Demonstration der Sprühroutine (gekühlte Lagerung der Sprühflaschen, etwa eine Stunde vor Gebrauch aus dem Kühlschrank entnehmen, vor jedem Sprühen einen Sprühstoß verwerfen, Kopf zum Sprühen in den Nacken legen, in jedes Nasenloch je einen Hub sprühen - die Sprühabfolge [rechts/links vs. links/rechts] wurde vorher per Zufall entschieden und blieb während des gesamten Längsschnitts gleich) und BZ-Selbstmessung. Die allgemeinen Verhaltensregeln umfassten eine 12-stündige Fastenperiode, Alkoholkarenz für 24 Stunden vor dem Labortermin, Vermeiden körperlicher Anstrengung

am Morgen des Labortermins, den Hinweis auf ausreichend Schlaf zu achten. Außerdem musste auf Einnahme von Medikamenten, Durchführung von Impfungen und Blutspenden während der gesamten Längsschnittuntersuchung verzichtet werden.

#### 2.3.4 Längsschnitt

In diesem Teil der Studie wurden mögliche Langzeitwirkungen zentralen Insulins untersucht. Wie schon unter 2.1 dargestellt, bestand die 16-wöchige Längsschnittphase aus einer 8-wöchigen Treatmentphase (mit experimenteller Variablen der Substanzgabe) und einer 8-wöchigen Follow-up Phase. In beiden Phasen wurden Daten im Labor und in häuslicher Umgebung der Pbn erfasst.

##### 2.3.4.1 Erfassung im Labor

In der Längsschnittphase der Untersuchung fand in den ersten 8 Wochen (und am ersten Tag von Woche 9) einmal wöchentlich ein Labortermin statt, im Follow-up fand ein Labortermin in Woche 12 und Woche 16 statt. Dafür fanden sich die Pbn im Versuchsraum im Deutschen Diabetes Zentrum Düsseldorf ein. Während der Laborsitzungen wurden wöchentlich BZ, endokrine Parameter, subjektive Parameter, Gedächtnisleistung und Blutdruck erfasst. Zudem in Einzelwochen das Essverhalten (Wochen 1, 5, 9, 16), Gewicht und WHR, Körperzusammensetzung (Wochen 1, 9, 16), Aufmerksamkeit (akustisch evozierte Potentiale, Wochen 2, 7, 12). Die Labortermine wurden standardisiert durchgeführt, es wurden jeweils zwei Pbn um 15 Minuten zeitversetzt untersucht. Die Abfolge der verschiedenen Aufgaben war zeitlich festgelegt, zur Vorgabe diente den Versuchsleitern ein Notebook mit Timerprogramm, das die Aufgaben und die genaue Minutenangabe der Durchführung anzeigte (vgl. Tabelle 5). Nach erfolgreichem Durchführen einer Aufgabe bestätigten die Versuchsleiter dies durch Drücken der Tastatur.

Tabelle 5: Zeitliche Übersicht des Versuchsablaufs.

Zeitpunkt (Minute)	Aufgabe
0	Allg. Instruktion, Substanzwahrnehmung vergangene Woche (ab Woche 2)
2	Befragung anhand des Protokollbogens
5	Blutdruckmessung (rechter Arm)
6	Wiegen, Messen, Bestimmung WHR
11	Austeilen/Einsammeln der Dokumentationsbögen BZ und Sprühroutine
14	Austeilen/Einsammeln/Kontrolle Nahrungs-, Schlaf-, Aktivitätsprotokoll (Woche 1, 5, 8, 12, 15)
16	Verteilen neuer Bögen
17	Wiegen alte Nasensprayflaschen
18	Wiegen und Übergabe neue Nasensprayflaschen
20	Sprayen in Woche 1, 3, 5, 7, 9 (Follow-up: Woche 16)
21	Geruchsbewertung und Substanzwahrnehmung in Woche 1, 3, 5, 7, 9, 16
22	LGT-3 UT Lernen Instruktion
23	LGT-3 UT Lernen Beginn
24	LGT-3 UT Lernen Ende
26	Symptombogen
27	EWL 60-S
33	LGT-3 UT Abruf Instruktion
34	LGT-3 UT Abruf Beginn
36	LGT-3 UT Abruf Ende
40	Blutdruckmessung (rechter Arm)
41	Blutabnahme venös
43	Sprayen in Woche 2, 4, 6, 8 (Follow-up: Woche 12)
44	Geruchsbewertung und Substanzwahrnehmung in Woche 2, 4, 6, 8, 12
45	Testmahlzeit in Woche 1, 5, 8, 12/ EEG in Woche 2, 7, 12

*Anmerkungen:* Allg.: allgemeine, BZ: Blutzucker, EWL 60-S: Eigenschaftswörterliste, LGT-3: Lern- und Gedächtnistest (Bäumler, 1983), UT: Untertest, WHR: Waist-to-Hip-Ratio.

Im folgenden Abschnitt wird auf bisher nicht ausführlich aufgeführte Aspekte des Versuchsablaufes eingegangen (vgl. Tabelle 5):

Zunächst erhielten alle Teilnehmer eine allgemeine Instruktion und ab Woche 2 je einen Bogen zur Geruchsbewertung und Substanzwahrnehmung des Nasensprays in der vorausgegangenen Woche. Anhand eines Protokollbogens (vgl. Anhang A 06.1) wurde standardisiert nach dem aktuellen gesundheitlichen Zustand und nach Veränderungen seit der letzten Woche gefragt und die unter 2.3.3 erläuterten Verhaltensregeln überprüft. Bei weiblichen Pbn wurde außerdem nach dem aktuellen Zyklustag gefragt (vgl. Zyklus kalender, Anhang A 07.8). Es folgte das Messen des Blutdruckes sowie Wiegen und Messen der Pbn. In Minute 11 wurden die Protokollierungen der Pbn aus der vergangenen Woche eingesammelt und kontrolliert sowie gegebenenfalls neue Bögen an die Pbn ausgehändigt. Zur Prüfung der Compliance bei Verabreichung des Nasensprays wurde das Gewicht der alten Nasensprayflaschen mit einer Waage (Fa. Sartorius) auf 0.01g genau bestimmt (pro Sprühhub ca. 0.1 ml, 3 x 2 Sprühhübe pro Tag). Auch die neuen Nasensprayflaschen für die folgende Woche wurden gewogen und an die Pbn übergeben. Jede dieser Flaschen war mit jeweils 5 ml Insulin bzw. 5 ml der Trägersubstanz gefüllt und es wurden, vor Übergabe an den Pbn, 5 Hübe (ca. 0.5 ml) durch die Versuchsleiter verworfen, um die Sprühdüse vorzubereiten. Ab Minute 22 fand der Gedächtnistest statt. Dazu bekamen die Pbn zunächst eine schriftliche Instruktion, anschließend begann die ein- bzw. zweiminütige Lernphase (Überblick über die einzeln durchgeführten Tests, sowie Dauer von Lernen und Abruf siehe Tabelle 2, 2.2.1). Der Abruf erfolgte verzögert im Abstand von 10 Minuten. Dazwischen wurden die Pbn in Minute 26 aufgefordert, einen Symptombogen und die EWL 60-S auszufüllen. Nach der zweiten Blutdruckmessung erfolgte eine venöse Blutabnahme mittels Butterfly (22Gx  $\frac{3}{4}$  0,7 x 19 mm). In jeder Laborsitzung verabreichten sich die Pbn das Nasenspray im Labor entweder in Minute 20 vor Beginn der Gedächtnisüberprüfung (Wochen 1, 3, 5, 7, 9 und 16) oder nach dem Gedächtnistest in Minute 43 (Wochen 2, 4, 6, 8, und 12). Je eine Minute nach Verabreichen des Nasensprays mussten die Pbn je einen Bogen zur Geruchsbewertung und zur Substanzwahrnehmung ausfüllen.

Zusätzlich zu diesen wöchentlich in den Laborsitzungen durchgeführten Aufgaben fanden in bestimmten Wochen weitere Erhebungen statt:

*Ernährungs-, Schlaf- und Aktivitätsprotokoll (Wochen 1, 5, 8, 12 und 15):*

Die Pbn füllten ein dreitägiges Ernährungsprotokoll, eine siebentägiges Schlafprotokoll sowie ein dreitägiges Aktivitätsprotokoll (vgl. Anhang A 07.7) aus. Diese Dokumentationsbögen wurden in Minute 14 der Laborsitzung ausgeteilt und in der darauffolgenden Woche wieder eingesammelt und auf Richtigkeit und Vollständigkeit überprüft.

#### *Akustisch evozierte Potentiale (Wochen 2, 7, 12):*

Zur Messung der Aufmerksamkeit mittels akustisch evozierter Potentiale fand im Anschluss an die 45-minütige Laborsitzung noch eine EEG- Ableitung statt (nach sog. Oddball-Paradigma).

#### *Essverhalten (Wochen 1, 5, 9, 16):*

Die Pbn erhielten am Ende der Laborsitzung eine standardisierte Testmahlzeit, die Aufschluss über Essverhalten und Essgeschwindigkeit geben sollte.

#### *Messung der Körperzusammensetzung (Wochen 1, 9, 16):*

Die Messung der Körperzusammensetzung mittels Densitometrie fand am Nachmittag der Laborsitzung in der MNR-Klinik der Universitätsklinik Düsseldorf statt.

Während der Laborsitzungen wurde überprüft, ob die Pbn in der vorausgegangenen Woche alle Aufgaben erfüllt hatten (BZ-Messung, Dokumentation, Sprühen) und die vereinbarten Regeln eingehalten hatten. Bei Nichteinhaltung wurden 10€ von ihrer Vergütung für die jeweilige Woche abgezogen.

#### 2.3.4.2 Erfassung zu Hause

Zusätzlich zu den 11 Laborterminen mussten die Pbn während des Längsschnitts ebenfalls Aufgaben zu Hause erfüllen (vgl. Tabelle 6):

Während der Treatmentphase musste täglich dreimal das Nasenspray verabreicht werden. Dazu erhielten die Pbn bei den Laborsitzungen jeweils 2 Nasensprayflaschen (Flasche 1 Tage 1-4, Flasche 2 Tage 5-7). Im Follow-up mussten 50% der Pbn weiterhin dreimal täglich sprühen, diese Pbn erhielten ausschließlich Placebo (um mögliche Konditionierungseffekte zu überprüfen). Die übrigen 50% der Pbn sprühten im Follow-up nicht weiter. Alle Pbn mussten während der ganzen 16 Wochen einmal täglich einen (auch in der Laborsitzung benutzten) Symptombogen ausfüllen, außerdem mussten sie einmal täglich eine BZ-Messung durchführen. Zum Aufschluss über das Ernährungs-, Schlaf- und Aktivitätsverhalten in häuslicher Umgebung erhielten die Pbn in einzelnen Wochen (Wochen 1, 5, 8, 12 und 15) jeweils die bereits beschriebenen Dokumentationsbögen. Alle Protokolle wurden bei der folgenden Laborsitzung wieder eingesammelt und von den Versuchsleitern auf Vollständigkeit und Richtigkeit überprüft.

Tabelle 6: *Überblick über die Aufgaben der Probanden zu Hause während des 16-wöchigen Längsschnitts.*

Woche	Aufgaben der Probanden
Treatmentphase Wochen 1 bis 9 (Tag 1) täglich	- dreimal intranasales Insulin/Placebo (20 Min vor den Hauptmahlzeiten) - einmal BZ- Messung - einmal Symptomliste
Follow-up-Phase Wochen 9-16 täglich	- dreimal intranasales Placebo (20 Min. vor den Hauptmahlzeiten) oder keine Substanz - einmal BZ- Messung - einmal Symptomliste
In einzelnen Wochen (Wochen 1, 5, 8, 12, 15)	- 3-tägiges Ernährungsprotokoll - 3-tägiges Aktivitätsprotokoll - 7-tägiges Schlafprotokoll

*Anmerkungen:* BZ: Blutzucker, Min.: Minuten.

## 2.4 Versuchspersonen

Im Rahmen der Studie wurden insgesamt 22 männliche und 22 weibliche Pbn untersucht (das Durchschnittsalter war bei Insulin- und Placebo behandelten Pbn vergleichbar [Männer: EG:  $25.18 \pm 0.67$ , KG:  $25.36 \pm 1.14$ ,  $U = 51.50$ ,  $z = -0.597$ ,  $p = .562$ ; Frauen: EG:  $23.64 \pm 0.59$ , KG:  $25.18 \pm 1.01$ ,  $U = 43.00$ ,  $z = -1.16$ ,  $p = .270$ ]), die die nachfolgend genannten Kriterien erfüllen mussten, um so eine Homogenität der Stichprobe zu gewährleisten und medizinische Ausschlussmerkmale zu eruieren:

Die Pbn mussten gesund sein (was durch Anamnese und körperliche Voruntersuchung überprüft wurde), zwischen 18 und 35 Jahren alt sein und Studierende sein. Die weiblichen Pbn durften keine hormonellen Kontrazeptiva verwenden und nicht schwanger sein.

Um Gesundheitsrisiken zu vermeiden und möglichen Interaktionen auf hormoneller Ebene vorzubeugen, führten folgende Kriterien zum Ausschluss aus der Studie, sie wurden während des in 2.3.1 beschriebenen Anamnesetermins vor der Studienteilnahme geprüft:

Vorliegen einer Diabeteserkrankung (auch bei Familienmitgliedern ersten Grades), andere endokrinologische Erkrankungen, Vorliegen von Allergien, Erkrankungen der Nase (anatomische Deviation, Polypen, akuter und/oder chronischer Schnupfen, Nasennebenhöhlenvereiterung), Kreislaufprobleme und kardiovaskuläre Erkrankungen, neurologische Erkrankungen, chronische Erkrankungen, Einnahme von Glucocorticoiden, Einnahme von Psychopharmaka, Sucht

(Abusus von Medikamenten, Alkohol, Nikotin, Drogen), Schlafstörungen, Betreiben von Leistungssport.

## 2.5 Örtliche, räumliche und zeitliche Durchführungsbedingung

Die Versuche fanden im Deutschen Diabetes Zentrum in Düsseldorf (Auf'm Hennekamp 65) statt. Der fensterlose Versuchsraum befand sich im Erdgeschoss und hatte eine Größe von 28 m<sup>2</sup>. Durch die Klimaanlage konnte eine konstante Raumtemperatur von 21° C gewährleistet werden.

Die verschiedenen Abschnitte der Studie fand im Zeitraum von 10.11.2005 bis einschließlich 21.03.2008 statt. Dabei erstreckte sich die Anamnese zeitlich von 10.11.2005 bis 06.11.2007, die Termine der Akutstudie fanden im Zeitraum von 13.02.2006 bis 20.11.2007 statt und die Längsschnitterhebung fand vom 24.07.2006 bis 21.03.2008 statt.

## 2.6 Versuchsaufbau

Der Versuchsraum war wie folgt ausgestattet: Zwei Pbn (je einer der Insulin- und der Placebogruppe) saßen während des Versuchs auf Entspannungsstühlen. Eine Trennwand gewährleistete, dass sich die Pbn nicht sehen konnten. Einer der beiden Computer diente der Steuerung der Triggerimpulse (Zielreiz, Standardreiz) für die Aufmerksamkeitstestung. Der andere Computer zeichnete die EEG-Ableitung auf.

Auf den insgesamt vier Instrumentenwagen befanden sich die Materialien für die EEG- Ableitung (Graspaste, Elektrodenpaste etc.), Blutdruckmessgerät, die für die Pbn vorbereiteten Nasensprayflaschen, die Utensilien für die Blutabnahme (Tupfer, Butterfly, Pflaster etc.), eine mit Eis gefüllte Styroporbox, zur Aufbewahrung der gewonnenen Blutproben, ein Notebook, das den Zeitablauf des Versuches mittels eines Timerprogramms präsentierte (siehe 2.3.4.1), eine Waage der Firma Sartorius zum Wiegen der Nasensprayflaschen.

## 2.7 Versuchsleiter

Bei den Versuchsleitern handelte es sich um eine Diplom Psychologin (als Doktorandin im Gesamtprojekt, mit Dissertation in der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf) und zwei Medizinstudentinnen (Doktorandinnen). 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. Der Versuch wurde doppelblind durchgeführt, um eine Beeinflussung sowohl der Versuchsleiter als auch der Studienteilnehmer zu verhindern.

## 2.8 Auswertung

Die erhobenen Daten wurden mit dem Statistikprogramm SPSS deskriptiv und inferenzstatistisch ausgewertet.

Die Effekte von Insulin vs. Placebo wurden dabei zum einen als absolute Werte (Befindlichkeit und Gedächtnisleistung), zum anderen als Differenz zu Woche 1 des Längsschnitts ausgedrückt (BZ und Hormone - um die hohe intra- und interindividuelle Variabilität zu berücksichtigen, vgl. Tabelle 7).

Tabelle 7: *Übersicht über die Erhebungszeitpunkte operationalisiert als Einzelmesszeitpunkte und Differenzscores.*

Abhängige Variable	Zeitpunkt EMZ im Treatment	EMZ Treatment (für MW Differenzscore)	Zeitpunkt EMZ im Follow-up	EMZ Follow-up (für MW)	Art der Berechnung
Blutzucker	Wochen 1-9	8	Wochen 12, 16	2	Differenz zu Woche 1
Insulin	Wochen 1-9	8	Wochen 12, 16	2	Differenz zu Woche 1
Östradiol	Wochen 1-9	8	Wochen 12, 16	2	Differenz zu Woche 1
Gedächtnis	Wochen 1-9	9	Wochen 12, 16	2	Absolute Werte
Befindlichkeit	Wochen 1-9	9	Wochen 12, 16	2	Absolute Werte

*Anmerkungen:* EMZ: Einzelmesszeitpunkte, MW: Mittelwert.

Allgemeine Übersicht: Zur Überprüfung von Intergruppenunterschieden wurden – aufgrund fehlender Normalverteilung in einzelnen Variablen und aufgrund der z. T. geringen Stichprobengröße bei Subgruppenanalysen (Substanzeffekte getrennt für Männer und Frauen) – parameterfreie Verfahren (Mann-Whitney U-Test) eingesetzt. Korrelative Zusammenhänge wurden durch Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizienten gekennzeichnet. Gruppenunterschiede zwischen Rangkorrelationskoeffizienten wurden mittels eines  $Chi^2$ -Tests (Kraemer, 1975) geprüft.

Es wurden zunächst die Effekte von Insulin vs. Placebo in der Gesamtgruppe untersucht; in einem weiteren Schritt wurden die Effekte von Insulin vs. Placebo getrennt für Männer und Frauen betrachtet.

Nachfolgend wird zwischen inferenzstatistischen Prüfungen und nur zur Deskription berichteten Analysen bzw. Zusatzanalysen unterschieden.

Die inferenzstatistischen Prüfungen betreffen die Effekte während der Treatmentphase, also in den 8 Wochen (und dem ersten Labortag in Woche 9), in denen die randomisierte Verabreichung von Insulin vs. Placebo erfolgte. Die Follow-up Daten wurden zur Deskription berechnet, diese  $p$ -Werte haben lediglich deskriptiven Charakter.

### *Gedächtnis*

Im Hinblick auf die Prüfung der Gedächtnisleistung wurde die Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte pro Gedächtnis-UT berechnet: die Werte der einzelnen UTs des LGT 3 und des VVM wurden mittels Mann-Whitney U-Test inferenzstatistisch überprüft und Intergruppenvergleiche durchgeführt und berichtet. Aufgrund der doppelten Verwendung von UTs in Parallelformen, findet hier eine  $\alpha$ -Adjustierung statt mit  $\alpha^* = .05/2 = .025$ . Außerdem wurde die differentielle Sensitivität für die Effekte von Insulin vs. Placebo für Männer und Frauen untersucht, indem die zugehörigen Intergruppenunterschiede getrennt für die Gruppe der Männer und der Frauen geprüft wurden.

Es wurden explorative Zusatzanalysen durchgeführt:

- Es wurde geprüft, ob sich Unterschiede in der Gedächtnisleistung ergeben, wenn in der Laborsitzung zwischen einer *zusätzlichen akuten* Insulingabe und dem Effekt der *ausschließlich kumulierten* Insulinwirkung unterschieden wird (dazu Datengruppierung Sprühen unmittelbar vor dem Lernen des jeweiligen UT [und Abruf 14 Minuten später, im Zustand der zusätzlichen akuten Insulinwirkung] vs. Sprühen erst nach dem Lernen und Abruf des Gedächtnistest [und damit Erfassung der ausschließlich kumulierten Wirkung der Insulingabe der bis dahin mehrwöchigen Insulindosis]). Es wurden Mann-Whitney U-Tests für die Gesamtgruppe und getrennt nach Geschlecht durchgeführt und  $p$ -Werte zur Deskription berichtet.
- Die wöchentlich erfasste Gedächtnisleistung wurde mit den peripheren Insulin- und Östradiolspiegeln korreliert (Rangkorrelation nach Spearman [paarweise Korrelation Gedächtnis x peripheres Insulin: für Gesamtgruppe, Männer Frauen; paarweise Korrelation Gedächtnisleistung x peripheres Östradiol: für Männer und Frauen]). Für jede Subgruppe (Männer, Frauen) wurde zum Vergleich der Korrelationskoeffizienten der

Insulin- vs. Placebobedingung eine  $Chi^2$ -Testung nach Kraemer (1975) vorgenommen (deskriptive Auswertung).

### *Blutzucker*

Zur Kennzeichnung der Wirkung der Langzeitbehandlung intranasale Insulins vs. Placebo auf BZ wurde die mittlere Differenz zur Baseline für die Treatmentphase bestimmt und für die inferenzstatische Hypothesenprüfung (mittels Mann-Whitney U-Test) verwendet und damit eine Testhäufung (bzgl. der Einzelmesszeitpunkte) vermieden. Nur zur Deskription (und nicht  $\alpha$ -adjustiert) wurden die einzelnen BZ-Differenzen der Treatment- und Follow-up Testzeitpunkte im Verlauf ausgewertet. Die Vergleiche wurden für die Gesamtgruppe und getrennt für männliche und weibliche Pbn vorgenommen.

### *Periphere Hormone*

Analog zum BZ wurden für peripheres Insulin und Östradiol die mittlere Differenz zur Baseline für die Treatmentphase bestimmt und für die inferenzstatische Hypothesenprüfung (mittels Mann-Whitney U-Test) verwendet und so eine Testhäufung vermieden. Nur zur Deskription (und nicht  $\alpha$ -adjustiert) wurden auch die Differenzen der einzelnen Testzeitpunkte (im Treatment und Follow-up) dargestellt. Dabei erfolgte die Analyse der für die Gesamtgruppe und getrennt nach männlichen und weiblichen Pbn. Aufgrund der hohen geschlechtsabhängigen interindividuellen Unterschiede wurden die Östradiolwerte direkt gesondert nach Geschlecht dargestellt.

### *Befindlichkeit*

Der Gesamtmittelwert der Treatmentphase wurde für die einzelnen Dimensionen („Leistungsbezogene Aktivität“, „Allgemeine Desaktivität“, „Extraversion/Introversion“, „Allgemeines Wohlbefinden“, „Emotionale Gereiztheit“, „Angst“, Mittelwert der Erhebungszeitpunkte) jeweils für EG und KG berechnet und die inferenzstatische Prüfung der Intergruppenunterschiede (Mann-Whitney U-Test) durchgeführt. Anschließend – und nur *zur Deskription* der Veränderungen - wurden Mittelwert und Standardfehler von zusammengefassten Wochen (Blöcke von 4 Wochen) für die Gesamtgruppe und getrennt nach Geschlecht deskriptiv beschrieben.

Es wurden explorative Zusatzanalysen durchgeführt:

- Die wöchentlich erfasste Befindlichkeit (anhand der bereits beschriebenen Befindlichkeitsdimensionen) wurde mit den peripheren Insulin- und Östradiolspiegeln korreliert (Rangkorrelation nach Spearman [paarweise Korrelation Befindlichkeit x peripheres Insulin: für Gesamtgruppe, Männer, Frauen; paarweise Korrelation Befindlichkeit x peripheres Östradiol: für Männer und Frauen]). Für jede Subgruppe (Männer, Frauen)

wurde zum Vergleich der Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebobedingung eine  $Chi^2$ -Testung nach Kraemer (1975) vorgenommen.

- Zur Betrachtung möglicher Konditionierungseffekte intranasalen Insulins auf Befindlichkeitswerte im Follow-up wurde beobachtet, ob nach Absetzen des Verums die unter Insulin entstandenen Effekte erhalten bleiben, wenn nur noch ein Placebo verabreicht wurde. Dafür erhielt im Follow-up die Hälfte der Pbn jeder Gruppe - unter Beibehaltung der Umgebungsbedingungen - weiterhin ein Nasenspray mit Placebo, die übrigen Pbn bekamen keine Substanz mehr. Es erfolgte eine Gegenüberstellung von Subgruppen anhand der Sprühbedingung im Follow-up (Vergleich EG und KG, die jeweils im Follow-up Placebo weitersprühten [Ins/Plac vs. Plac/Plac] und Vergleich innerhalb der EG [Ins/Plac vs. Ins/ - ]).

Die Auswertung der explorativen Zusatzanalysen erfolgte nur zur Deskription.

# 3 Ergebnisse

## 3.1 Gedächtnis

### 3.1.1 Gedächtnisleistung Insulin vs. Placebo: Gesamtgruppe

Die Gedächtnisleistung wurde anhand ausgewählter Untertests (im Folgenden als UT abgekürzt) des LGT-3 von Bäumlner (1974) und mittels des UTs „Stadtplan“ des visuellen und verbalen Merkfähigkeitstests (VVM) von Schellig und Schächtele (2001) während der einzelnen Laborsitzungen erhoben (siehe auch 2.2.1). Tabelle 8a gibt eine Übersicht über die jeweiligen UTs, Sprühzeitpunkte sowie Mittelwerte und Standardfehler der EG und der KG. Intergruppenunterschiede wurden inferenzstatistisch mittels Mann-Whitney U-Test geprüft (vgl. auch Blicke, 2009).

Tabelle 8a: *Gesamtgruppe: Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte pro UT des LGT-3 und VVM Stadtplan für die Insulin- und die Kontrollgruppe: Mittelwert (M), Standardfehler (SEM) und p-Werte, einseitig, (Mann-Whitney U-Test).*

Woche	Sprühzeitpunkt vor oder nach Gedächtnistest	Gedächtnistest	Substanzgruppe Insulin M (SEM)	Placebo M (SEM)	p-Wert (einseitig)
1	vorher	Stadtplan	21.55 (1.13)	20.50 (0.40)	.275
2	nachher	Gegenstände	12.00 (0.48)	13.23 (0.60)	.084
3	vorher	Telefon	7.05 (0.62)	7.73 (0.66)	.282
4	nachher	Bau	12.36 (0.69)	12.60 (0.81)	.500
5	vorher	Firmenzeichen	12.86 (0.69)	12.09 (0.47)	.120
6	nachher	Stadtplan	21.14 (1.55)	21.09 (1.12)	.319
7	vorher	Gegenstände	12.59 (0.54)	13.45 (0.49)	.152
8	nachher	Telefon	7.19 (0.69)	7.23 (0.68)	.481
9	vorher	Bau	13.23 (0.86)	15.23 (0.78)	.057
12	nachher	Firmenzeichen	12.86 (0.52)	12.55 (0.45)	.296
16	vorher	Stadtplan (VVM)	25.41 (0.80)	25.86 (1.12)	.191

*Anmerkungen:* LGT-3: Lern- und Gedächtnistest; UT: Untertest, VVM: visueller und verbaler Merkfähigkeitstest.

Wie aus Tabelle 8a ersichtlich, ergibt sich kein Hinweis auf eine bessere Gedächtnisleistung infolge der Insulin- gegenüber der Placebobehandlung. Im Gegenteil, es zeigte sich in Woche 2 beim UT Gegenstände (EG:  $M = 12.00 \pm 0.48$ , KG:  $M = 13.23 \pm 0.60$ ,  $U = 184.00$ ,  $z = -1.378$ ,  $p = .084$ ) und in Woche 9 beim UT Bau (KG: EG:  $M = 13.23 \pm 0.86$ ,  $M = 15.23 \pm 0.78$ ,  $U = 175.00$ ,  $z = -1.583$ ,  $p = .057$ ) – entgegen der Erwartungen – sogar ein richtungsmäßig höherer Testwert der KG gegenüber der EG ( $p$ -Werte im Bereich zwischen .05 und .10, bzw.  $1 - .05$  und  $1 - .10$  im Hinblick auf die erwartete Ergebnisrichtung).

### 3.1.2 Gedächtnisleistung getrennt für männliche und weibliche Versuchsteilnehmer

Zur Betrachtung der differentiellen Sensitivität von Insulineffekten für Männer und Frauen wurden Intergruppenunterschiede gesondert für Männer und Frauen überprüft: Es ergaben sich auch für die Subgruppe der *Männer* (siehe auch Tabelle 8 b) keine statistisch relevanten Gruppenunterschiede. Entgegen der Erwartung zeigte die männliche EG sogar vereinzelt eine schlechtere Gedächtnisleistung als die KG, so beim UT Bau in Woche 9 (EG:  $M = 12.09 \pm 0.89$ , KG:  $M = 14.55 \pm 1.19$ ,  $U = 36.00$ ,  $z = -1.622$ ,  $p = .058$ ) und beim VVM Stadtplan in Woche 16 (EG:  $M = 25.36 \pm 1.13$ , KG:  $M = 27.91 \pm 1.54$ ,  $U = 32.00$ ,  $z = -1.897$ ,  $p = .033$ ).

Tabelle 8b: *Männer: Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte pro UT des LGT-3 für die Insulin- und die Kontrollgruppe: Mittelwert (M), Standardfehler (SEM) und p-Werte, einseitig, (Mann-Whitney U-Test).*

Woche	Sprühzeitpunkt vor oder nach Gedächtnistest	Gedächtnistest	Substanzgruppe Insulin $M$ (SEM)	Placebo $M$ (SEM)	$p$ -Wert (einseitig)
1	vorher	Stadtplan	21.00 (1.49)	21.45 (1.89)	.449
2	nachher	Gegenstände	11.91 (0.78)	12.18 (0.74)	.374
3	vorher	Telefon	5.82 (0.78)	7.64 (0.97)	.122
4	nachher	Bau	11.82 (0.69)	11.00 (0.69)	.201
5	vorher	Firmenzeichen	12.50 (0.85)	11.91 (0.53)	.303
6	nachher	Stadtplan	19.91 (2.70)	23.00 (1.26)	.350
7	vorher	Gegenstände	12.09 (0.83)	13.09 (0.73)	.219
8	nachher	Telefon	6.70 (1.07)	6.55 (1.00)	.432
9	vorher	Bau	12.09 (0.89)	14.55 (1.20)	.058
12	nachher	Firmenzeichen	12.91 (0.88)	13.27 (.43)	.424
16	vorher	Stadtplan (VVM)	25.36 (1.13)	27.91 (1.54)	.033

*Anmerkungen:* LGT-3: Lern- und Gedächtnistest; UT: Untertest, VVM: visueller und verbaler Merkfähigkeitstest.

Bei den *Frauen* bestätigte sich die Annahme der verbesserten Gedächtnisleistung der EG nur im UT Stadtplan in Woche 6, hier zeigten die Insulin behandelten Pbn erwartungsgemäß eine bessere Gedächtnisleistung (EG:  $M = 22.36 \pm 1.60$ , KG:  $M = 19.18 \pm 1.71$ ,  $U = 37.50$ ,  $z = -1.516$ ,  $p = .067$ ), wobei der  $p$ -Wert von .067 aufgrund der vorgenommenen  $\alpha$ -Adjustierung auch den kritischen Wert für eine tendenzielle Signifikanz nicht unterschreitet. Im UT Gegenstände in Woche 2 hatte die KG - entgegen der Erwartung - eine bessere Gedächtnisleistung als die EG (EG:  $M = 12.09 \pm 0.61$ , KG:  $M = 14.27 \pm 0.85$ ,  $U = 35.50$ ,  $z = -1.667$ ,  $p = .051$ ). Tabelle 8c gibt einen Überblick über die Ergebnisse.

Tabelle 8c: *Frauen: Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte pro UT des LGT-3 für die Insulin- und die Kontrollgruppe: Mittelwert (M), Standardfehler (SEM) und p-Werte, einseitig, (Mann-Whitney U-Test).*

Woche	Sprühzeitpunkt vor oder nach Gedächtnistest	Gedächtnistest	Substanzgruppe Insulin $M$ (SEM)	Placebo $M$ (SEM)	$p$ -Wert (einseitig)
1	vorher	Stadtplan	22.09 (1.18)	18.64 (2.08)	.201
2	nachher	Gegenstände	12.09 (0.61)	14.27 (0.85)	.051
3	vorher	Telefon	8.27 (0.84)	7.82 (0.94)	.303
4	nachher	Bau	12.91 (1.42)	14.36 (1.30)	.303
5	vorher	Firmenzeichen	13.18 (1.10)	12.27 (0.79)	.201
6	nachher	Stadtplan	22.36 (1.60)	19.18 (1.71)	.067
7	vorher	Gegenstände	13.09 (0.71)	13.82 (0.67)	.303
8	nachher	Telefon	7.64 (0.92)	7.91 (0.91)	.424
9	vorher	Bau	14.36 (1.44)	15.91 (1.022)	.260
12	nachher	Firmenzeichen	12.82 (0.59)	11.82 (0.74)	.166
16	vorher	Stadtplan (VVM)	25.45 (1.19)	23.82 (1.43)	.260

*Anmerkungen:* LGT-3: Lern- und Gedächtnistest; UT: Untertest, VVM: visueller und verbaler Merkfähigkeitstest.

### 3.1.3 Zeitpunkt der Insulinapplikation und Auswirkungen auf die Gedächtnisleistung (zusätzliche akute vs. ausschließlich kumulierte Insulineffekte): Explorative Analysen

Um zu differenzieren, ob sich der Zeitpunkt einer *zusätzlichen akuten* intranasalen Insulingabe unmittelbar vor der Gedächtnisüberprüfung auf die Gedächtnisleistungen auswirkt, wurde folgende Unterscheidung vorgenommen: „zusätzliches akutes Sprühen vor dem Gedächtnistest“ vs. „Sprühen erst nach dem Gedächtnistest“ (und somit Erfassung der ausschließlich kumulierten Wirkung der langfristigen Insulingabe der vorangehenden Wochen). Die zeitliche Durchführung des Gedächtnistests war in allen Versuchswochen konstant: Lernen Minute 23,

Beginn Abruf in Minute 34 der Laborsitzung, vgl. Tabelle 5, 2.3.4). Es wurden *Summen der Gedächtnistests des Treatments mit Sprühen vor dem Gedächtnistest* (Sprühen in Minute 20; Gesamt maximal 84 erreichbare Punkte) vs. *Summe der Gedächtnistests des Treatments mit Sprühen nach dem Gedächtnistest* (Sprühen in Minute 43; Gesamt maximal 85 erreichbare Punkte) und außerdem die *Summe der zusammengefassten Gedächtnistests des Follow-ups* gebildet und diese Werte zwischen EG und KG (Gesamt/Männer/Frauen) verglichen. Um eine bessere Vergleichbarkeit – durch die gleiche Anzahl der einbezogenen UTs im Treatment - zu gewährleisten (nämlich 4 mal vor, 4 mal nach der Substanzgabe) wurde der Wert von Woche 9 bei der Berechnung nicht mit einbezogen. Die *p*-Werte werden einseitig berichtet. In der Gesamtgruppe (vgl. Tabelle 9a) zeigten sich keine Unterschiede zwischen Insulin- und Placebo behandelten Pbn.

Tabelle 9a: *Gesamtgruppe: Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte für die zusammengefassten Gedächtnistests mit Sprühen (Insulin oder Placebo) vor bzw. nach dem Gedächtnistest für die Insulin- und die Kontrollgruppe: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) und p-Werte (Mann-Whitney U-Test) der zur Deskription durchgeführten Vergleiche.*

Summe Gedächtnistests	Gesamtgruppe		
	Insulin M (SEM)	Placebo M (SEM)	p-Wert (einseitig) (Mann-Whitney U)
Sprühen vor Gedächtnistest Wochen 1, 3, 5, 7	54.62 (1.58)	53.32 (1.84)	.276
Sprühen nach Gedächtnistest Wochen 2, 4, 6, 8	53.52 (2.47)	54.23 (1.95)	.491
Tests Follow-up Wochen 12, 16	38.27 (0.99)	38.41 (1.32)	.345

Tabelle 9b: *Männer: Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte für die zusammengefassten Gedächtnistests mit Sprühen (Insulin oder Placebo) vor bzw. nach dem Gedächtnistest für die Insulin- und die Kontrollgruppe: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) und p-Werte (Mann-Whitney U-Test) der zur Deskription durchgeführten Vergleiche.*

Summe Gedächtnistests	Männer		
	Insulin M (SEM)	Placebo M (SEM)	p-Wert (einseitig) (Mann-Whitney U)
Sprühen vor Gedächtnistest Wochen 1, 3, 5, 7	52.40 (1.67)	54.09 (2.61)	.459
Sprühen nach Gedächtnistest Wochen 2, 4, 6, 8	51.90 (3.66)	52.73 (2.54)	.487
Tests Follow-up	38.27 (1.28)	41.18 (1.74)	.028

Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigte sich bei *Männern* kein Unterschied im Vergleich von EG und KG in den zusammengefassten Tests des Treatments (sowohl bei Sprühen vor dem Gedächtnistest vs. Sprühen nach dem Gedächtnistest). Im Follow-up erzielten die Placebo behandelten Pbn – entgegen der Erwartung - sogar ein besseres Ergebnis als die Insulin behandelten Pbn (Insulin:  $M = 38.27 \pm 1.28$ ; Placebo:  $M = 41.18 \pm 1.74$ ,  $p = .028$ ; vgl. Tabelle 9b).

Tabelle 9c: *Frauen: Anzahl der richtig erinnerten Gedächtnisinhalte für die zusammengefassten Gedächtnistests mit Sprühen (Insulin oder Placebo) vor bzw. nach dem Gedächtnistest für die Insulin- und die Kontrollgruppe: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) und p-Werte (Mann-Whitney U-Test) der zur Deskription durchgeführten Vergleiche.*

Summe Gedächtnistests	Frauen		
	Insulin <i>M (SEM)</i>	Placebo <i>M (SEM)</i>	<i>p</i> -Wert (einseitig) (Mann-Whitney U)
Sprühen <i>vor</i> Gedächtnistest Wochen 1, 3, 5, 7	56.64 (2.54)	52.55 (2.69)	.135
Sprühen <i>nach</i> Gedächtnistest Wochen 2, 4, 6, 8	55.00 (3.44)	55.73 (3.01)	.500
Tests Follow-up	38.27 (1.57)	35.64 (1.66)	.097

Für *Frauen* zeigten sich in den zusammengefassten Gedächtnistests des Treatments kein Unterschied zwischen EG und KG, sowohl bei Sprühen vor dem Gedächtnistest vs. Sprühen nach dem Gedächtnistest. Allerdings ergaben sich im Follow-up höhere Werte bei den Insulin- vs. Placebo behandelten Pbn mit einem  $p$ -Wert  $< .10$  (EG:  $M = 38.27 \pm 1.57$ ; KG:  $M = 35.64 \pm 1.66$ ,  $p = .097$ , vgl. Tabelle 9c).

### 3.1.4 Korrelation zwischen Gedächtnisleistung und peripheren Hormonspiegeln: Explorative Analysen

Um mögliche treatmentspezifische Zusammenhänge zwischen der Gedächtnisleistung und den peripheren Spiegel von Insulin bzw. Östradiol pro Messzeitpunkt zu untersuchen, wurde im Sinne korrelativer Zusatzanalysen die Korrelation zwischen den peripheren Hormonspiegeln und der Gedächtnisleistung deskriptiv für die Insulin- vs. Placebo behandelten Pbn erfasst, es werden jeweils einseitige  $p$ -Werte (aufgrund der erwarteten positiven Korrelationen) berichtet.

## Insulin

Die Rangkorrelationen nach Spearman (periphere Insulinspiegel x Gedächtnisleistung pro Woche) für Insulin vs. Placebo erfolgte für die Gesamtgruppe (vgl. Tabelle 10a) und getrennt nach Geschlecht (vgl. Tabelle 10b Männer, Tabelle 10c Frauen). Zum Intergruppenvergleich der Korrelationskoeffizienten wurde ein  $\chi^2$ -Test nach Kraemer durchgeführt.

Tabelle 10a: Gesamtgruppe: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation): periphere Insulinspiegel und Gedächtnisleistung in den einzelnen Versuchswochen sowie Ergebnisse der Prüfung der Unterschiede der Korrelationskoeffizienten zwischen der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe ( $\chi^2$ -Test).

Woche/ Gedächtnistest	Gesamtgruppe		
	Rangkorrelationskoeffizient und $p$ -Wert (einseitig)		$\chi^2(df=1)$
	Insulin	Placebo	
1 Stadtplan	$r_s = -.366^*$ $p = .047$	$r_s = -.057$ $p = .400$	1.063
2 Gegenstände	$r_s = .197$ $p = .190$	$r_s = -.534^{**}$ $p = .005$	6.166*
3 Telefon	$r_s = .277$ $p = .106$	$r_s = .133$ $p = .278$	0.227
4 Bau	$r_s = .211$ $p = .173$	$r_s = -.162$ $p = .235$	1.418
5 Firmenzeichen	$r_s = .227$ $p = .162$	$r_s = .246$ $p = .135$	0.004
6 Stadtplan	$r_s = -.111$ $p = .311$	$r_s = .262$ $p = .119$	1.433
7 Gegenstände	$r_s = .373$ $p = .043$	$r_s = -.154$ $p = .247$	2.957[*]
8 Telefon	$r_s = .627^{**}$ $p = .001$	$r_s = -.097$ $p = .338$	6.759*
9 Bau	$r_s = -.305$ $p = .084$	$r_s = -.168$ $p = .227$	0.211
12 Firmenzeichen	$r_s = -.270$ $p = .112$	$r_s = -.055$ $p = .404$	0.491
16 Stadtplan VVM	$r_s = .402^*$ $p = .032$	$r_s = -.188$ $p = .201$	3.740[*]

Anmerkungen:  $r_s$ : Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

[\*]:  $p$  einseitig < .10;    \*:  $p$  einseitig < .05    \*\*:  $p$  einseitig < .01

In der Gesamtgruppe zeigte sich bei Gabe von intranasalem Insulin in der Mehrzahl der Wochen eine positive Rangkorrelation zwischen dem peripheren Insulinspiegel und der Gedächtnisleistung, dabei erreichte die Korrelation in den Wochen 8 und 16  $p$ -Werte unter .05 (Woche

8: UT Telefon,  $r_s = .627$ ,  $p = .001$ ; Woche 16 UT Stadtplan VVM,  $r_s = .402$ ,  $p = .032$ , einseitig). In Woche 1 (UT Stadtplan) zeigte sich bei den Insulin behandelten Pbn- entgegen der Erwartung - eine negative Korrelation ( $r_s = -.366$ ,  $p = .047$ ).

Bei der KG zeigte sich kein einheitliches Muster. Nur in Woche 2 (UT Gegenstände,  $r_s = -.534$ ,  $p = .005$ ) lag eine negative Korrelation mit einem  $p$ -Wert unter .05 vor. Beim Vergleich der Rangkorrelationskoeffizienten ( $Chi^2$ -Test) waren die Unterschiede in der Gesamtgruppe (Insulin vs. Placebo) in den Wochen 2 und 8 deutlich, mit  $p$ -Werten  $< .05$ : die Gedächtnisleistung war hier bei EG positiv und KG negativ mit dem peripheren Insulinspiegel korreliert (Woche 2, UT Gegenstände:  $Chi^2 = 6.166$ ,  $p < .05$ ; Woche 8, UT Telefon:  $Chi^2 = 6.759$ ,  $p < .05$ ).

Tabelle 10b: *Männer: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation): periphere Insulinspiegel und Gedächtnisleistung in den einzelnen Versuchswochen sowie Ergebnisse der Prüfung der Unterschiede der Korrelationskoeffizienten zwischen der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe (Chi2-Test).*

Woche/ Gedächtnistest	Männer		
	Rangkorrelationskoeffizient und $p$ -Wert (einseitig)		
	Insulin	Placebo	$Chi^2(df = 1)$
1 Stadtplan	$r_s = -.204$ $p = .274$	$r_s = .037$ $p = .457$	0.267
2 Gegenstände	$r_s = .074$ $p = .415$	$r_s = -.899^{**}$ $p = .001$	9.772**
3 Telefon	$r_s = -.317$ $p = .171$	$r_s = .221$ $p = .257$	1.359
4 Bau	$r_s = -.065$ $p = .424$	$r_s = .065$ $p = .425$	0.076
5 Firmenzeichen	$r_s = .593^*$ $p = .035$	$r_s = .100$ $p = .385$	1.503
6 Stadtplan	$r_s = -.094$ $p = .391$	$r_s = -.275$ $p = .207$	0.159
7 Gegenstände	$r_s = .247$ $p = .232$	$r_s = -.475$ $p = .070$	2.596
8 Telefon	$r_s = .616^*$ $p = .029$	$r_s = -.110$ $p = .373$	3.008[*]
9 Bau	$r_s = -.250$ $p = .229$	$r_s = -.183$ $p = .295$	0.022
12 Firmenzeichen	$r_s = -.474$ $p = .071$	$r_s = .271$ $p = .210$	2.760[*]
16 Stadtplan VVM	$r_s = .337$ $p = .155$	$r_s = -.154$ $p = .325$	1.140

Anmerkungen:  $r_s$ : Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

[\*]:  $p$  einseitig  $< .10$ ;    \*:  $p$  einseitig  $< .05$     \*\*:  $p$  einseitig  $< .01$ .

Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht ergab sich bei den *Männern* keine klare Richtung der Korrelationskoeffizienten über die Wochen hinweg - es lagen sowohl positive als auch negative Korrelationen in den Einzelwochen vor. In der EG zeigten sich relevante positive Korrelationen in den Wochen 5 (UT Firmenzeichen) und 8 (UT Telefon) jeweils mit  $p$ -Werten unter .05 (Woche 5:  $r_s = .593$ ,  $p = .035$ ; Woche 8:  $r_s = .616$ ,  $p = .029$ ). In der KG kam es über den Zeitverlauf sowohl zu positiven als auch zu negativen Korrelationen wobei nur in Woche 2 (UT Gegenstände) eine negative Korrelation mit einem  $p$ -Wert  $< .05$  ( $r_s: - .899$ ,  $p = .010$ ) vorlag. Der Intergruppenvergleich der Korrelationskoeffizienten mittels  $Chi^2$ -Testung belegt für Woche 2 (UT Gegenstände,  $Chi^2 = 9.772$ ,  $p < .01$ ) einen Unterschied mit einer positiven Korrelation in der EG und einer negativen Korrelation in der KG (vgl. Tabelle 10b).

In der Gruppe der *Frauen* lagen sowohl positive als auch negative Korrelationen zwischen peripherem Insulinspiegel und Gedächtnisleistung vor. In Woche 1 (UT Stadtplan) war jedoch der periphere Insulinspiegel – entgegen der Erwartungen – negativ mit der Gedächtnisleistung korreliert ( $r_s = - .636$ ,  $p = .018$ ). In den Wochen 3 und 8 (je UT Telefon) lagen positive Korrelationen mit einem  $p$ -Wert unter .05 vor (Woche 3:  $r_s = .720$ ,  $p = .006$ ; Woche 8:  $r_s = .628$ ,  $p = .019$ ). Bei der KG waren peripherer Insulinspiegel und Gedächtnisleistung lediglich in Woche 6 (Gedächtnistest Stadtplan) positiv korreliert ( $r_s = .621$ ,  $p = .021$ ; hier auch relevanter Gruppenvergleich:  $Chi^2 = 4.564^*$ ,  $p < .05$ , vgl. Tabelle 10c).

Tabelle 10c: Frauen: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation): periphere Insulinpiegel und Gedächtnisleistung in den einzelnen Versuchswochen sowie Ergebnisse der Prüfung der Unterschiede der Korrelationskoeffizienten zwischen der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe (Chi<sup>2</sup>-Test).

Woche/ Gedächtnistest	Frauen		
	Rangkorrelationskoeffizient und <i>p</i> -Wert (einseitig)		Chi <sup>2</sup> (df=1)
	Insulin	Placebo	
1 Stadtplan	$r_s = -.636$ $p = .018$	$r_s = -.077$ $p = .410$	2.008
2 Gegenstände	$r_s = .255$ $p = .224$	$r_s = -.323$ $p = .166$	1.574
3 Telefon	$r_s = .720^{**}$ $p = .006$	$r_s = .056$ $p = .435$	3.169[*]
4 Bau	$r_s = .198$ $p = .280$	$r_s = -.239$ $p = .240$	0.881
5 Firmenzeichen	$r_s = -.078$ $p = .410$	$r_s = .251$ $p = .228$	0.502
6 Stadtplan	$r_s = -.293$ $p = .191$	$r_s = .621^*$ $p = .021$	4.564*
7 Gegenstände	$r_s = .387$ $p = .120$	$r_s = .009$ $p = .489$	0.713
8 Telefon	$r_s = .628^*$ $p = .019$	$r_s = -.135$ $p = .355$	3.333[*]
9 Bau	$r_s = -.456$ $p = .079$	$r_s = -.150$ $p = .330$	0.521
12 Firmenzeichen	$r_s = -.166$ $p = .313$	$r_s = -.116$ $p = .367$	0.244
16 Stadtplan VVM	$r_s = .464$ $p = .075$	$r_s = -.288$ $p = .195$	2.798[*]

Anmerkungen:  $r_s$ : Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

[\*]:  $p$  einseitig < .10;   \*:  $p$  einseitig < .05   \*\*:  $p$  einseitig < .01.

### Östradiol

Um substanzspezifische Zusammenhänge zwischen der Gedächtnisleistung und den peripheren Östradiolspiegeln zu untersuchen, wurden Rangkorrelationen nach Spearman für die Insulin- und Placebo behandelten Gruppen berechnet. Aufgrund der per se geschlechtsabhängigen Variabilität der Östradiolwerte erfolgte direkt eine gesonderte Auswertung nach Geschlecht (vgl. Tabelle 11a und 11b).

Tabelle 11a: Männer: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation): periphere Östradiolspiegel und Gedächtnisleistung in den einzelnen Versuchswochen sowie Ergebnisse der Prüfung der Unterschiede der Korrelationskoeffizienten zwischen der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe (Chi2-Test).

Woche/ Gedächtnistest	Männer		
	Rangkorrelationskoeffizient und <i>p</i> -Wert (einseitig)		<i>Chi</i> <sup>2</sup> ( <i>df</i> = 1)
	Insulin	Placebo	
1 Stadtplan	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.350 <i>p</i> = .146	<i>r</i> <sub>s</sub> = .731 ** <i>p</i> = .005	7.085**
2 Gegenstände	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.292 <i>p</i> = .192	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.184 <i>p</i> = .294	0.059
3 Telefon	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.092 <i>p</i> = .394	<i>r</i> <sub>s</sub> = .512 <i>p</i> = .054	1.912
4 Bau	<i>r</i> <sub>s</sub> = .198 <i>p</i> = .280	<i>r</i> <sub>s</sub> = .302 <i>p</i> = .183	0.055
5 Firmenzeichen	<i>r</i> <sub>s</sub> = .117 <i>p</i> = .373	<i>r</i> <sub>s</sub> = .610 * <i>p</i> = .023	1.460
6 Stadtplan	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.585 * <i>p</i> = .029	<i>r</i> <sub>s</sub> = .661 * <i>p</i> = .013	8.896**
7 Gegenstände	<i>r</i> <sub>s</sub> = .382 <i>p</i> = .123	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.381 <i>p</i> = .124	2.831
8 Telefon	<i>r</i> <sub>s</sub> = .442 <i>p</i> = .101	<i>r</i> <sub>s</sub> = .383 <i>p</i> = .123	0.021
9 Bau	<i>r</i> <sub>s</sub> = .390 <i>p</i> = .118	<i>r</i> <sub>s</sub> = .018 <i>p</i> = .479	0.693
12 Firmenzeichen	<i>r</i> <sub>s</sub> = -.261 <i>p</i> = .219	<i>r</i> <sub>s</sub> = .524* <i>p</i> = .049	3.151
16 Stadtplan VVM	<i>r</i> <sub>s</sub> = .442 [*] <i>p</i> = .087	<i>r</i> <sub>s</sub> = .169 <i>p</i> = .309	0.414

Anmerkungen: *r*<sub>s</sub>: Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

[\*]: *p* einseitig < .10; \*: *p* einseitig < .05 \*\*: *p* einseitig < .01.

Bei Männern lagen in der EG in den Einzelwochen sowohl positive als auch negative Korrelationen zwischen peripherem Östradiolspiegel und der Gedächtnisleistung vor, wobei nur in Woche 6 (UT Stadtplan) der *p*-Wert unter .05 lag (*r*<sub>s</sub> = -.585 \*, *p* = .029). Die KG wies in den überwiegenden Wochen positive Korrelationen auf, in den Wochen 1 (UT Stadtplan, *r*<sub>s</sub> = .731, *p* = .005) und 5 (UT Firmenzeichen, *r*<sub>s</sub> = .610, *p* = .023) lagen die *p*-Werte unter .05. Der Intergruppenvergleich der Korrelationskoeffizienten erreichte in den Wochen 1 und 6, jeweils beim UT Stadtplan, einen *p*-Wert von < .05 (Woche 1: *Chi*<sup>2</sup> = 7.085, *p* < .05; Woche 6: *Chi*<sup>2</sup> = 8.896, *p* < .05). Hier lagen allerdings negative Korrelationen bei der EG und positive Korrelationen der KG vor (vgl. Tabelle 11a).

Tabelle 11b: *Frauen: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation): periphere Östradiolspiegel und Gedächtnisleistung in den einzelnen Versuchswochen sowie Ergebnisse der Prüfung der Unterschiede der Korrelationskoeffizienten zwischen der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe (Chi2-Test).*

Woche/ Gedächtnistest	Frauen		
	Rangkorrelationskoeffizient und <i>p</i> -Wert (einseitig)		<i>Chi</i> <sup>2</sup> (df=1)
	Insulin	Placebo	
1 Stadtplan	$r_s = .465$ [*] $p = .075$	$r_s = -.018$ $p = .479$	1.211
2 Gegenstände	$r_s = -.535$ * $p = .045$	$r_s = .259$ $p = .221$	3.246[*]
3 Telefon	$r_s = .633$ * $p = .018$	$r_s = .360$ $p = .138$	0.611
4 Bau	$r_s = .788$ ** $p = .002$	$r_s = -.152$ $p = .328$	6.313 *
5 Firmenzeichen	$r_s = -.549$ * $p = .400$	$r_s = -.315$ $p = .173$	0.379
6 Stadtplan	$r_s = -.096$ $p = .390$	$r_s = -.294$ $p = .190$	0.192
7 Gegenstände	$r_s = -.187$ $p = .291$	$r_s = -.354$ $p = .143$	0.147
8 Telefon	$r_s = -.023$ $p = .473$	$r_s = .166$ $p = .323$	0.154
9 Bau	$r_s = .221$ $p = .257$	$r_s = .463$ [*] $p = .076$	0.343
12 Firmenzeichen	$r_s = .032$ $p = .462$	$r_s = .582$ * $p = .030$	1.776
16 Stadtplan VVM	$r_s = .271$ $p = .210$	$r_s = -.265$ $p = .216$	1.342

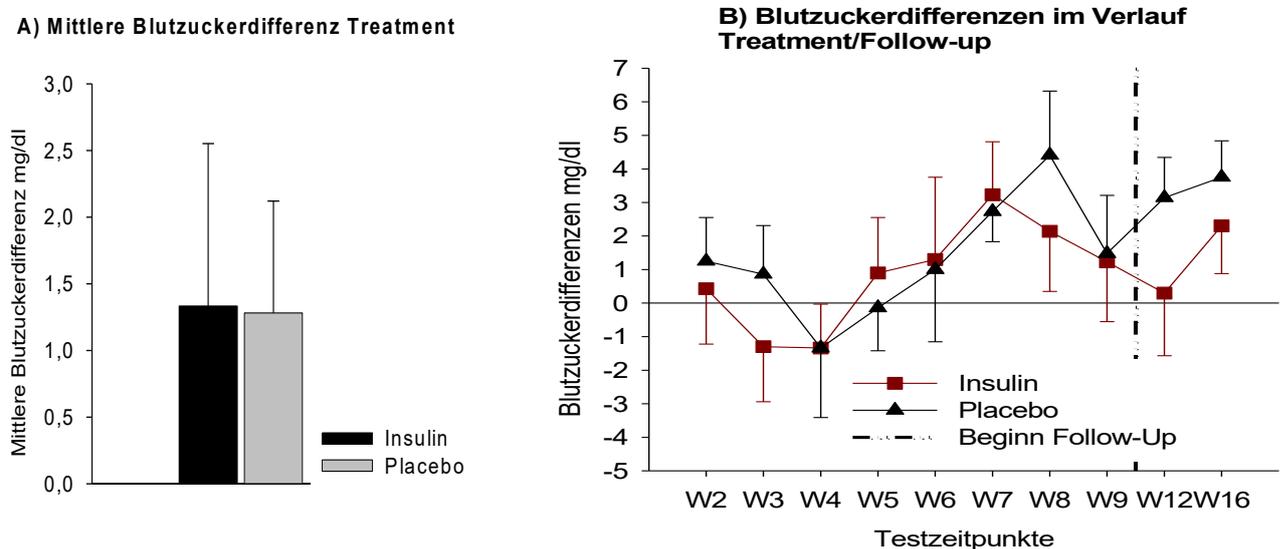
Anmerkungen:  $r_s$ : Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman

[\*]:  $p$  einseitig < .10; \* :  $p$  einseitig < .05 \*\* :  $p$  einseitig < .01.

In der EG der *Frauen* lagen sowohl positive als auch negative Korrelationen vor. Dabei wurde – bei den positiven Korrelationen - in Woche 1 der  $p$ -Wert < .10, in den Wochen 3 und 4 waren die  $p$ -Werte < .05 (Woche 1, UT Stadtplan,  $r_s = .465$ ,  $p = .075$ ; Woche 3: UT Telefon,  $r_s = .633$ ,  $p = .018$ ; Woche 4: UT Bau,  $r_s = .788$ ,  $p = .002$ ). In Woche 2 war – entgegen der Erwartungen – eine negative Korrelation zu verzeichnen (UT Gegenstände,  $r_s = -.535$ ,  $p = .045$ ). In der KG zeigte sich nur in Woche 12 eine positive Korrelation mit einem  $p$ -Wert < .05 (UT Firmenzeichen,  $p = .030$ ). Der Intergruppenvergleich der Korrelationskoeffizienten zeigte in Woche 4 einen Unterschied zwischen EG und KG ( $Chi^2 = 6.313$ ,  $p < .05$ ) mit positiver Korrelation der EG, negativer Korrelation der KG (vgl. Tabelle 10b).

## 3.2 Blutzucker

Unter der Hypothese, dass intranasales Insulin den BZ innerhalb des euglykämischen Bereichs senkt, wurde der Gesamtmittelwert der Blutzuckerdifferenzen zu Woche 1 (gemittelt über die Wochen der Treatmentphase) inferenzstatistisch auf Intergruppenunterschiede überprüft. Diese Zusammenfassung zu einem Wert für die inferenzstatistische Prüfung diente der Vermeidung von Testhäufungen. Es werden zunächst die Ausgangswerte aus Woche 1 für EG und KG auf Vergleichbarkeit der Gruppen geprüft. Da sämtliche Pbn durch die Akutstudie schon Vorerfahrung mit intranasalem Insulin hatten, werden auch beim Vergleich dieser Ausgangswerte einseitige  $p$ -Werte berichtet (vgl. auch Blicke, 2009).



**Abbildung 1: A-B:** Mittlere Blutzuckerdifferenzen zu Ausgangswoche 1 für die gesamte Treatmentphase ( $p > .05$ ). **B:** Blutzuckerdifferenzen zu Woche 1 von EG und KG im Verlauf der Treatment- und Follow-up Phase: Woche 2-1:  $p = .481$ , Woche 3-1:  $p = .130$ , Woche 4-1:  $p = .244$ , Woche 5-1:  $p = .226$ , Woche 6-1:  $p = .279$ , Woche 7-1:  $p = .186$ , Woche 8-1:  $p = .349$ , Woche 9-1:  $p = .458$ , Woche 12-1:  $p = .103$ , Woche 16-1:  $p = .196$ ,  $p$ -Werte einseitig.

Es gab keine Ausgangswertdifferenzen in Woche 1 (EG:  $M = 80.52 \text{ mg/dl} \pm 1.50$ , KG:  $M = 80.32 \text{ mg/dl} \pm 1.07$ ,  $U = 230.50$ ,  $z = -0.270$ ,  $p = .394$ , einseitig). Allerdings unterschieden sich die EG und KG – entgegen der Erwartung – auch nicht in der BZ-Differenz für das gesamte Treatment (EG:  $M = 1.33 \text{ mg/dl} \pm 1.22$ , KG:  $M = 1.28 \text{ mg/dl} \pm 0.84$ ,  $U = 208.00$ ,  $z = -0.559$ ,  $p = .288$ ) (Abb. 1A). Die mittlere Blutzuckerdifferenz lag bei der EG und der KG im positiven Bereich. Bei der zur Deskription durchgeführten Analyse der Differenzwerte pro Woche (Abb. 1B) zeichnet sich ein Anstieg der Differenzen bei EG und KG in den positiven Bereich im späteren Treatment (ab Woche 5) ab und blieb im weiteren Verlauf von Treatment und Follow-up

im positiven Bereich, wobei alle nur zur Deskription dienenden  $p$ -Werte nur einen Wert  $> .05$  erreichten.

Die Intergruppenunterschiede zwischen Insulin- und Placebogruppe wurden analog zur Gesamtgruppe auch getrennt für Männer und Frauen berechnet:

Auch bei *Männern* waren die Ausgangswerte vergleichbar (EG:  $M = 81.09 \text{ mg/dl} \pm 2.17$ , KG:  $M = 81.36 \text{ mg/dl} \pm 1.65$ ,  $U = 50.00$ ,  $z = -0.690$ ,  $p = .260$ , einseitig). In der BZ-Differenz gemittelt für das gesamte Treatment unterschieden sich EG und KG – entgegen der Erwartung - nicht voneinander (EG:  $M = 1.53 \text{ mg/dl} \pm 1.71$ , KG:  $M = 0.74 \text{ mg/dl} \pm 1.54$ ,  $U = 45.00$ ,  $z = -0.704$ ,  $p = .256$ ). Auch bei der zur Deskription vorgenommenen Betrachtung der einzelnen Wochen ergaben sich in Treatment und Follow-up keine relevanten Unterschiede in den Differenzwerten (Treatment: alle  $U \geq 35.00$ , alle  $p \geq .088$ , Follow-up: alle  $U \geq 46.00$ , alle  $p \geq .183$ , grafisch nicht dargestellt).

Bei den *Frauen* waren die Ausgangswerte vergleichbar (EG:  $M = 79.95 \text{ mg/dl} \pm 2.15$ , KG:  $M = 79.27 \text{ mg/dl} \pm 1.36$ ,  $U = 55.00$ ,  $z = -0.361$ ,  $p = .374$ , einseitig). Allerdings unterschieden sich entgegen der Erwartung die BZ-Differenz für das gesamte Treatment erneut bei EG und KG nicht voneinander (EG:  $M = 1.16 \text{ mg/dl} \pm 1.81$ , KG:  $M = 1.82 \text{ mg/dl} \pm 0.732$ ,  $U = 56.50$ ,  $z = -0.263$ ,  $p = .399$ ), auch im Verlauf ergaben sich in Treatment und Follow-up keine relevanten Unterschiede in den zur Deskription berechneten Differenzen der Einzelwochen (Treatment: alle  $U \geq 41.00$ , alle  $p \geq .101$ , Follow-up: alle  $U \geq 39.50$ , alle  $p \geq .086$ , grafisch nicht dargestellt).

### 3.3 Periphere Hormonspiegel (Insulin/Östradiol)

#### 3.3.1 Insulin

Zur inferenzstatistischen Überprüfung der Insulinspiegel wurde der Gesamtmittelwert der Differenzen zu Woche 1 auf Intergruppenunterschiede geprüft. Nur zur Deskription werden die einzelnen Hormondifferenzen der Treatment- und Follow-up Testzeitpunkte dargestellt. Es werden zunächst die Ausgangswerte aus Woche 1 für EG und KG auf Vergleichbarkeit der Gruppen geprüft. Wie auch beim BZ werden auch bei peripherem Insulin einseitige  $p$ -Werte berichtet, da sämtliche Pbn durch die Akutstudie schon Vorerfahrung mit intranasalem Insulin hatten (vgl. auch Blicke, 2009).

In Woche 1 unterschieden sich die Insulinspiegel von EG und KG nicht (EG:  $M = 6.94 \text{ mU/l} \pm 0.67$ , KG:  $M = 6.84 \text{ mU/l} \pm 1.31$ ,  $U = 187.50$ ,  $z = -1.280$ ,  $p = .105$ ). Entgegen der Erwartung waren auch die Mittelwerte der aufsummierten Insulindifferenzen im Treatment für EG und KG vergleichbar (EG:  $M = 0.25 \text{ mU/l} \pm 0.49$ , KG:  $M = 0.11 \text{ mU/l} \pm 0.49$ ,  $U = 211.50$ ,  $z = -0.474$ ,  $p = .318$ ). Die zur Deskription berechneten Insulindifferenzen im Verlauf schwankten in EG und KG im positiven wie negativen Bereich, es ergab sich kein einheitliches Muster. In Woche 12 lag bei der EG eine negative (entsprechend einer Abnahme zum Ausgangswert), bei der KG eine positive (Anstieg verglichen zum Ausgangswert) Differenz vor, der  $p$ -Wert war hier unter .05 (siehe Abb. 2A/B).

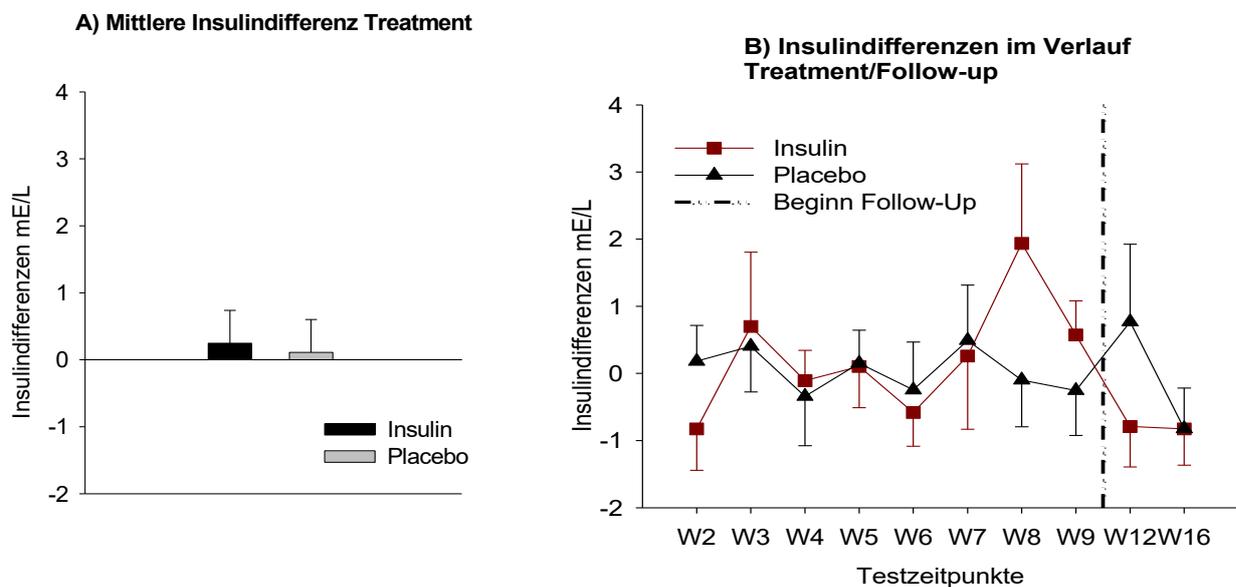


Abbildung 2: A-B: Mittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Insulindifferenzen zu Woche 1 für die gesamte Treatmentphase B: Insulindifferenzen der EG und KG während der Treatment- und Follow-up Phase als Differenzen zu Woche 1. Ergebnisse der zur Deskription berechneten Intergruppenunterschiede: Woche 2-1:  $p = .083$ , Woche 3-1:  $p = .307$ , Woche 4-1:  $p = .385$ , Woche 5-1:  $p = .389$ , Woche 6-1:  $p = .219$ , Woche 7-1:  $p = .130$ , Woche 8-1:  $p = .260$ , Woche 9-1:  $p = .151$ , Woche 12-1:  $p$ -Wert = .030, Woche 16-1:  $p$ -Wert = .430,  $p$ -Werte einseitig.

Die Intergruppenunterschiede zwischen Insulin- und Placebogruppe wurden analog zur Gesamtgruppe auch getrennt für Männer und Frauen berechnet.

Bei den *Männern* waren die Ausgangswerte (EG:  $M = 6.22 \text{ mU/l} \pm 2.55$ , KG:  $M = 5.93 \text{ mU/l} \pm 3.75$ ,  $U = 58.50$ ,  $z = -0.131$ ,  $p = .449$ ) vergleichbar. Die Mittelwerte der aufsummierten Insulindifferenzen im Treatment waren – entgegen der Erwartung - für EG und KG vergleichbar (EG:  $M = 0.52 \text{ mU/l} \pm 0.63$ , KG:  $M = 0.24 \text{ mU/l} \pm 0.79$ ,  $U = 58.50$ ,  $z = -0.131$ ,  $p = .449$ ). Auch im Verlauf ergaben sich im Treatment keine relevanten Unterschiede in den zur Deskription berechneten Differenzen der Einzelwochen (Treatment: alle  $U \geq 42.50$ , alle  $p \geq .122$ ). Im Follow-

up in Woche 12 lagen sowohl in EG als auch in KG negative Differenzen vor, mit einem einseitigen  $p$ -Wert unter .10 (EG:  $M = -1.35 \text{ mU/l} \pm 0.75$ , KG:  $M = -0.42 \text{ mU/l} \pm 0.94$ ,  $U = 36.00$ ,  $z = -1.614$ ,  $p = .058$ ), der richtungsmäßige Unterschied war in Woche 16 nicht mehr sichtbar ( $p = .40$ ; grafisch nicht dargestellt).

Bei den *Frauen* waren die Ausgangswerte (EG:  $M = 7.66 \text{ mU/l} \pm 3.61$ , KG:  $M = 7.75 \text{ mU/l} \pm 6.52$ ,  $U = 58.50$ ,  $z = -0.131$ ,  $p = .449$ ) vergleichbar. Entgegen der Erwartung waren die Mittelwerte der aufsummierten Insulindifferenzen im Treatment auch für Frauen für EG und KG vergleichbar (EG:  $M = -0.23 \text{ mU/l} \pm 0.77$ , KG:  $M = 0.21 \text{ mU/l} \pm 0.59$ ,  $U = 47.00$ ,  $z = -0.564$ ,  $p = .303$ ). Auch im Verlauf ergaben sich in Treatment und Follow-up keine relevanten Unterschiede in den zur Deskription berechneten Differenzen der Einzelwochen (Treatment: alle  $U \geq 40.00$ , alle  $p \geq .097$ , Follow-up: alle  $U \geq 45.00$ , alle  $p \geq .166$ , grafisch nicht dargestellt).

### 3.3.2 Östradiol

Es wurde ebenfalls untersucht, ob die intranasale Gabe von Insulin vs. Placebo zu einer Veränderung des peripheren Östradiolspiegels führt. Aufgrund der per se geschlechtsabhängigen Variabilität der Östradiolwerte erfolgte direkt die gesonderte Auswertung nach Geschlecht. Zur inferenzstatistischen Überprüfung der Östradiolspiegel wurde der Gesamtmittelwert der Differenzen zu Woche 1 auf Intergruppenunterschiede geprüft (vgl. auch Blicke, 2009). Zudem wurden zur Deskription die Differenzwerte pro Woche berechnet. Da bisher keine Daten zu einer möglichen Beeinflussung zentralen Insulins auf periphere Östradiolspiegel vorliegen, werden zweiseitige  $p$ -Werte berichtet.

Bei *Männern* waren die Ausgangswerte in Woche 1 von EG und KG vergleichbar (EG:  $M = 34.18 \text{ pg/ml} \pm 11.12$ ; KG:  $M = 39.27 \text{ pg/ml} \pm 11.79$ ;  $U = 43.50$ ,  $z = -1.120$ ,  $p = .270$ ). Der Mittelwert der aufsummierten Östradioldifferenzen lag für die EG im positiven, für die KG im negativen Bereich, verfehlte allerdings das Signifikanzniveau (EG:  $M = 0.35 \text{ pg/ml} \pm 1.67$ , KG:  $M = -4.10 \text{ pg/ml} \pm 2.03$ ,  $U = 36.00$ ,  $z = -1.609$ ,  $p = .116$ , vgl. Abb. 3 A). Bei den (zur Deskription und nicht  $\alpha$ -adjustierten) Werten im Verlauf zeigten sich in den meisten Einzelwochen höhere Werte der EG verglichen mit der KG (außer in Woche 5), die Werte der KG lagen überwiegend im negativen Bereich, was eine Abnahme relativ zum Ausgangswert anzeigt. Die  $p$ -Werte (zweiseitig) in den Wochen 4 und 7 erreichten dabei Werte unter .10 (jeweils mit höherem Wert in der EG, siehe Abb. 3. A).

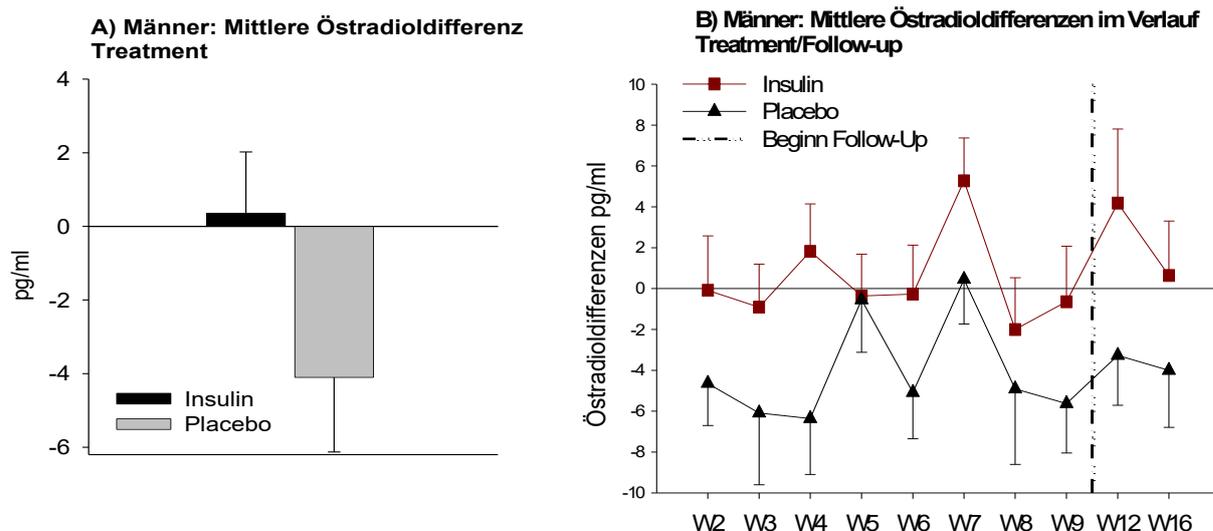


Abbildung 3: A-B: Männer: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Östradioldifferenzen zu Woche 1 für die gesamte Treatmentphase. B: Östradioldifferenzen der EG und KG während der Treatment- und Follow-up Phase als Differenzen zu Woche 1. Ergebnisse der zur Deskription berechneten Intergruppenunterschiede: Woche 2-1:  $p = .270$ , Woche 3-1:  $p = .243$ , Woche 4-1:  $p = .047$ , Woche 5-1:  $p = .606$ , Woche 6-1:  $p = .133$ , Woche 7-1:  $p = .065$ , Woche 8-1:  $p = 1.000$ , Woche 9-1:  $p = .332$ , Woche 12-1:  $p$ -Wert =  $.151$ , Woche 16-1:  $p$ -Wert =  $.365$ ,  $p$ -Werte zweiseitig.

Bei den *Frauen* gab es keine Ausgangsdifferenzen in Woche 1 (EG:  $M = 72.00$  pg/ml  $\pm 53.70$ , KG:  $M = 98.82$  pg/ml  $\pm 80.95$ ,  $U = 53.00$ ,  $z = -0.493$ ,  $p = .652$ ). Beim Gesamtmittelwert des Treatments zeigte sich – entgegen der Erwartung - kein Unterschied zwischen EG und KG (EG:  $M = 22.15$  pg/ml  $\pm 16.68$ , KG:  $M = 15.99$  pg/ml  $\pm 18.41$ ,  $U = 46.50$ ,  $z = -0.599$ ,  $p = .557$ ). Im Verlauf von Treatment und Follow-up blieben die Östradioldifferenzen der EG konstant im positiven Bereich, die Werte der KG schwankten dagegen deutlich, sie lagen sowohl im negativen als auch im positiven Bereich. In Woche 8 war der Unterschied zwischen EG und KG am deutlichsten mit einem Wert von  $p < .10$  (EG:  $M = 48.27$  pg/ml  $\pm 30.06$ , KG:  $M = -22.40$  pg/ml  $\pm 23.86$ ,  $p = .051$ ), ansonsten zeigten sich keine relevanten Unterschiede (Treatment: alle  $U \geq 27.50$ ,  $p \geq .051$ , Follow-up: alle  $U \geq 37.00$ ,  $p \geq .151$ , Abb. 4B).

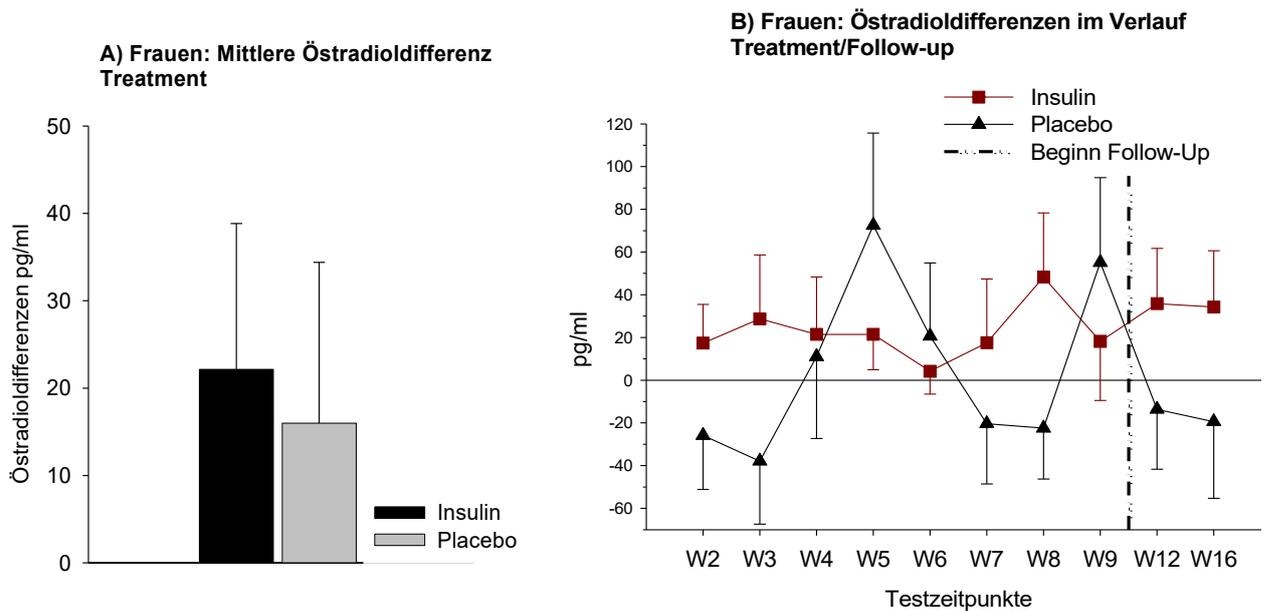


Abbildung 4: A-B: Frauen: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Östradioldifferenzen zu Woche 1 für die gesamte Treatmentphase. B: Östradioldifferenzen der EG und KG während der Treatment- und Follow-up Phase als Differenzen zu Woche 1. Ergebnisse der zur Deskription berechneten Intergruppenunterschiede: Woche 2-1:  $p = .270$ , Woche 3-1:  $p = .133$ , Woche 4-1:  $p = .438$ , Woche 5-1:  $p = .332$ , Woche 6-1:  $p = .898$ , Woche 7-1:  $p = .438$ , Woche 8-1:  $p = .051$ , Woche 9-1:  $p = .606$ , Woche 12-1:  $p$ -Wert =  $.133$ , Woche 16-1:  $p$ -Wert =  $.151$ ,  $p$ -Werte zweiseitig.

### 3.4 Befindlichkeit

#### 3.4.1 Befindlichkeit Insulin vs. Placebo: Gesamtgruppe und gesonderte Betrachtung nach Geschlecht

Die Befindlichkeit wurde mit der EWL 60-S von Janke und Debus (s. auch 2.2.4 Befinden/EWL) in 6 Dimensionen gemessen, die jeweils 3 positive und 3 negative Befindlichkeitsdimensionen beinhalteteten:

Tabelle 12: Übersicht über positive und negative Befindlichkeitsdimensionen.

Positive Befindlichkeitsdimensionen	Negative Befindlichkeitsdimensionen
Leistungsbezogene Aktivität	Allgemeine Desaktivität
Extraversion/Introversion	Emotionale Gereiztheit
Allgemeines Wohlbefinden	Angst

Zur inferenzstatistischen Überprüfung von Intergruppenunterschieden wurde der Mann-Whitney U-Test bezüglich der Werte der Treatmentphase (mittlere Befindlichkeit pro Woche) verwendet. Somit werden der Gesamtmittelwert der Treatment-Phase (Woche 1-9) für EG und KG berichtet und die Ergebnisse inferenzstatistisch geprüft. Nur zur Deskription werden die Treatment- und Follow-up Phase im Verlauf zusammengefasster Wochen dargestellt (Vergleich der mittleren Befindlichkeit gemittelt über die Wochen 2-5, Wochen 6-9, Woche 12 und Woche 16). Dies erfolgt für die Gesamtgruppe und getrennt für Männer und Frauen (vgl. Blicke, 2009).

Die Hälfte der Probanden von EG und KG sprühte auch im Follow-up die Placebosubstanz weiter. Um Konditionierungseffekte differenzieren zu können, erfolgt deshalb zusätzlich eine Gegenüberstellung von Subgruppen anhand dieser Bedingungen in den Wochen 12 und 16 (explorative Zusatzanalyse). Dabei wurden zum einen diejenigen Probanden der EG und KG verglichen, die jeweils im Follow-up Placebo weitersprühten (Ins/Plac vs. Plac/Plac). Zum anderen erfolgte innerhalb der EG (Insulin im Treatment) ein Vergleich der Subgruppe, die im Follow-up weitersprühte (Placebo) mit der Subgruppe der EG, die nicht weitersprühte (Ins/Plac vs. Ins/ - ). Es werden hier einseitige  $p$ -Werte berichtet.

#### *Leistungsbezogene Aktivität*

In Woche 1 zeigten sich vergleichbare Ausgangswerte der „Leistungsbezogenen Aktivität“ von EG und KG (EG:  $M = 7.64 \pm 0.92$ , KG:  $M = 8.23 \pm 0.82$ ,  $U = 226.50$ ,  $z = -0.365$ ,  $p = .358$ , einseitig). Allerdings ergab sich – entgegen der Erwartung - beim Gesamtmittelwert der Treatmentphase kein Unterschied zwischen Insulin- und Placebo Behandlung (EG:  $M = 7.52 \pm 0.87$ , KG:  $M = 7.66 \pm 0.73$ ,  $U = 214.00$ ,  $z = -0.164$ ,  $p = .435$ ). Bei den mittleren Befindlichkeitswerten der zusammengefassten Wochen waren erst ab Woche 6 bis 9 höhere Werte in der EG zu sehen, die in den- zur Deskription durchgeführten – Vergleichen der Follow-up Phase in Woche 12 ( $U = 182.50$ ,  $z = -1.402$ ,  $p = .081$ ) und 16 ( $U = 177.00$ ,  $z = -1.316$ ,  $p = .094$ ) mit einem  $p$ -Wert unter .10 deutlicher wurden (vgl. Abb. 5 A/B).

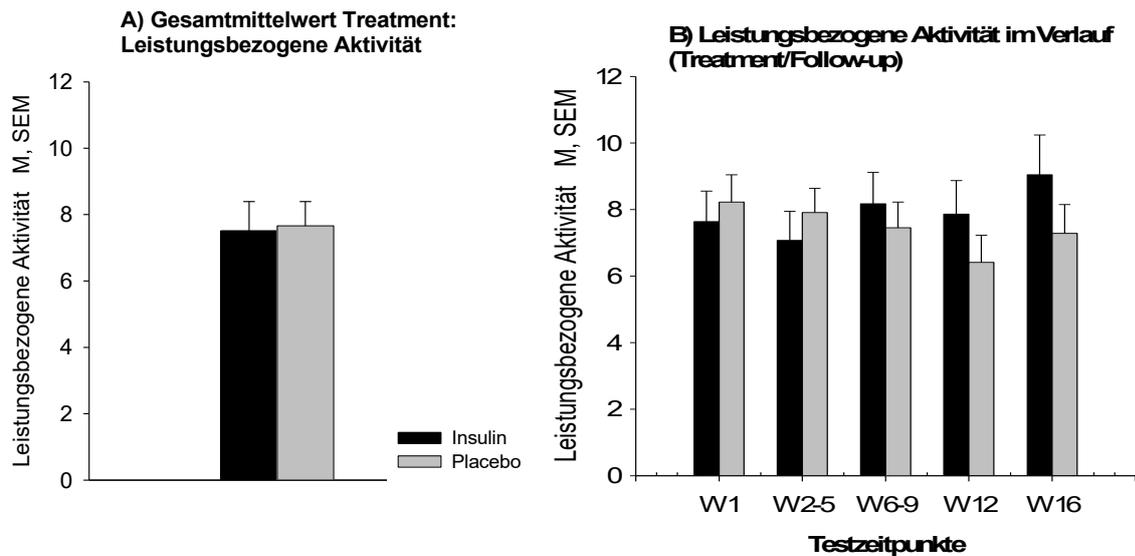


Abbildung 5: A-B: Dimension „Leistungsbezogene Aktivität A: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Gesamtgruppe B: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Gesamtgruppe.

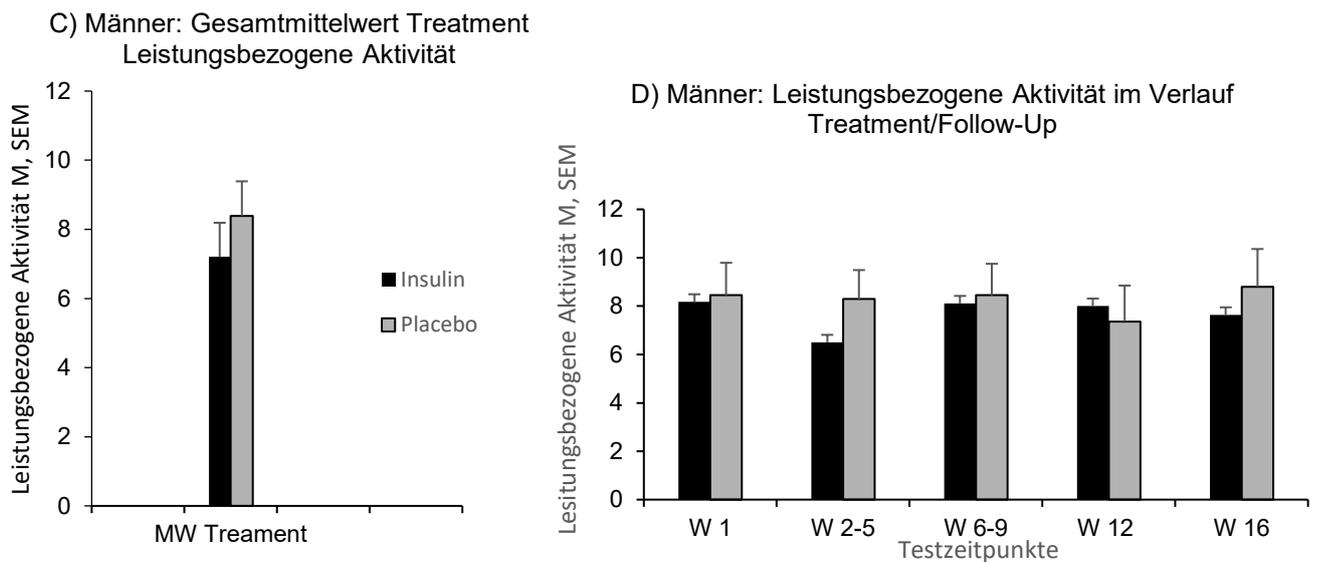


Abbildung 5: C-D: Dimension „Leistungsbezogene Aktivität C: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Männer D: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Männer

In der Subgruppe der *Männer* ergaben sich keine Unterschiede zwischen EG und KG (Abb. 5C, 5D), weder in Woche 1 noch im Treatment (Mittelwert) und auch nicht im Verlauf während des Treatments und in den Follow-up Wochen (alle  $U \geq 43.50$ , alle  $p \geq .213$ ).

Es fällt auf, dass der beschriebene Effekt in der Gesamtgruppe (Anstieg der Werte ab Woche 6-9 und im Follow-up) auf *Frauen* zurückzuführen ist: ab Woche 6-9 und dann deutlicher im

Follow-up, insbesondere in der letzten Follow-up Woche 16, erreichte die EG der Frauen höhere Aktivitätswerte verglichen mit der KG (W 6-9:  $U = 37.00$ ,  $z = -1.269$ ,  $p = .112$ ; W12:  $U = 38.50$ ,  $z = -1.452$ ,  $p = .076$ ; W16:  $U = 26.50$ ,  $z = -2.240$ ,  $p = .012$ ). Der Gesamtmittelwert der Treatmentphase unterschied sich allerdings – entgegen der Erwartung - nicht zwischen EG und KG (EG:  $M = 7.82 \pm 1.23$ , KG:  $M = 6.86 \pm 0.76$ ,  $U = 50.00$ ,  $z = -.352$ ,  $p = .378$ , vgl. Abb. 5E, 5F).

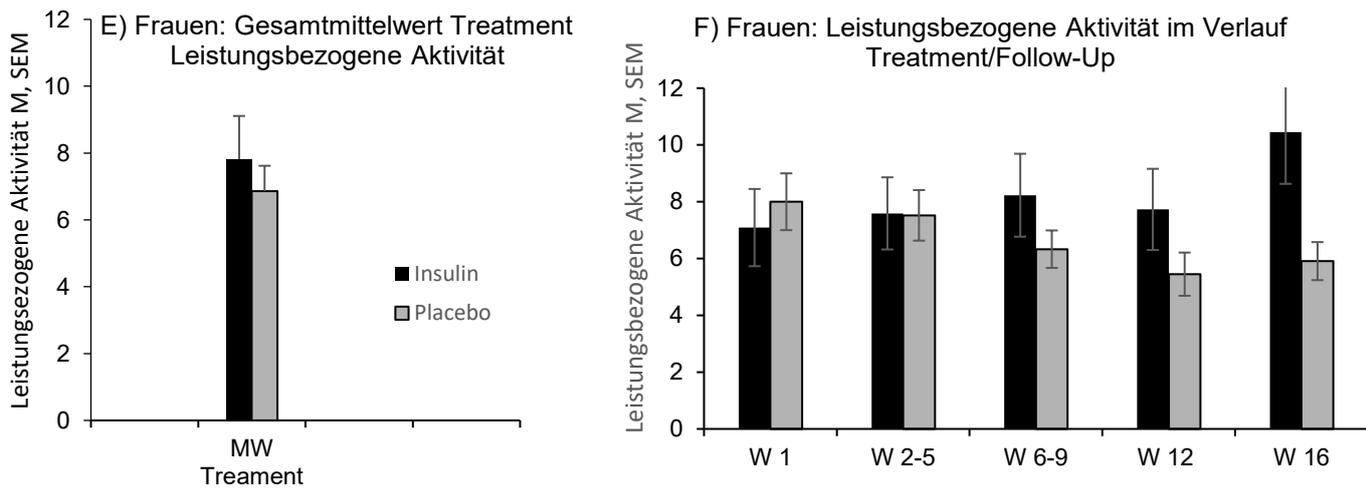


Abbildung 5: E-F: Dimension „Leistungsbezogene Aktivität E: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Frauen F: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Frauen.

Bei den zur Deskription berechneten Vergleichen möglicher Konditionierungseffekte im Follow-up ergaben sich für Woche 12 erste Hinweise (jeweils  $p < .10$ ) auf eine bessere Leistung der EG verglichen mit der KG (jeweils Placebo im Follow-up) in Gesamtgruppe ( $p = .085$ ) und bei den Frauen ( $p = .089$ ). Bei den Frauen blieb der Effekt auch für Woche 16 bestehen ( $p = .089$ ). Dies spricht dafür, dass bei den Insulin behandelten Pbn der Gesamtgruppe (für Woche 12) und - deutlicher noch - bei den Frauen (Wochen 12 und 16) Konditionierungseffekte an den besseren Befindlichkeitswerte im Follow-up beteiligt waren. Beim Subgruppenvergleich innerhalb der EG (Ins/Plac vs. Ins/ - ) fanden sich keine relevanten Unterschiede (vgl. Tabelle 13).

Tabelle 13: „Leistungsbezogene Aktivität“: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) unterschieden nach Konditionierungsbedingungen im Follow-up.

Follow-up Zeitpunkt	Woche 12			Woche 16		
Sprühbed.	Ins/Plac	Plac/Plac	p	Ins/Plac	Plac/Plac	p-Wert (einseitig)
Gesamt	8.92 ± 1.18	7.27 ± 1.38	.085	9.67 ± 1.97	8.45 ± 1.37	.263
Männer	9.33 ± 1.52	9.33 ± 2.06	.350	7.83 ± 2.44	10.33 ± 2.16	.295
Frauen	8.50 ± 1.95	4.80 ± 1.11	.089	11.50 ± 3.13	6.20 ± 1.02	.089
Sprühbed.	Ins/Plac	Ins/ -	p	Ins/Plac	Ins/ -	p
Gesamt	8.92 ± 1.18	6.60 ± 1.69	.191	9.67 ± 1.97	8.30 ± 1.25	.228.
Männer	9.33 ± 1.52	6.40 ± 2.77	.269	7.83 ± 2.44	7.40 ± 1.94	.466
Frauen	8.50 ± 1.95	6.80 ± 2.27	.269	11.50 ± 3.13	9.20 ± 1.69	.215

Anmerkungen: Ins: Insulin, Plac: Placebo, Sprühbed.: Sprühbedingung.

Sprühbedingungen: Ins/Plac = Insulin im Treatment, Placebo im Follow-up, Plac/Plac = Placebo im Treatment, Placebo im Follow-up, Ins/ - = Insulin im Treatment, keine Substanz im Follow-up.

### Allgemeine Desaktivität

Bei der Dimension „Allgemeine Desaktivität“ gab es zwischen EG und KG keine Unterschiede im Ausgangswert in Woche 1 (EG:  $M = 6.86 \pm 1.13$ , KG:  $M = 7.14 \pm 0.98$ ,  $U = 231.50$ ,  $z = -0.247$ ,  $p = .403$ ). Im Gesamtmittelwert der Treatmentphase ergaben sich richtungsmäßig niedrigere Werte in der EG, aber – entgegen der Erwartung - keine Hinweise auf statistisch relevante Gruppenunterschiede (EG:  $M = 6.35 \pm 0.78$ , KG:  $M = 7.81 \pm 1.04$ ,  $U = 196.50$ ,  $z = -0.201$ ,  $p = .201$ ). Dies gilt auch für die zur Deskription betrachteten Wochen im Zeitverlauf für Treatment und Follow-up (Abb. 6A/B).

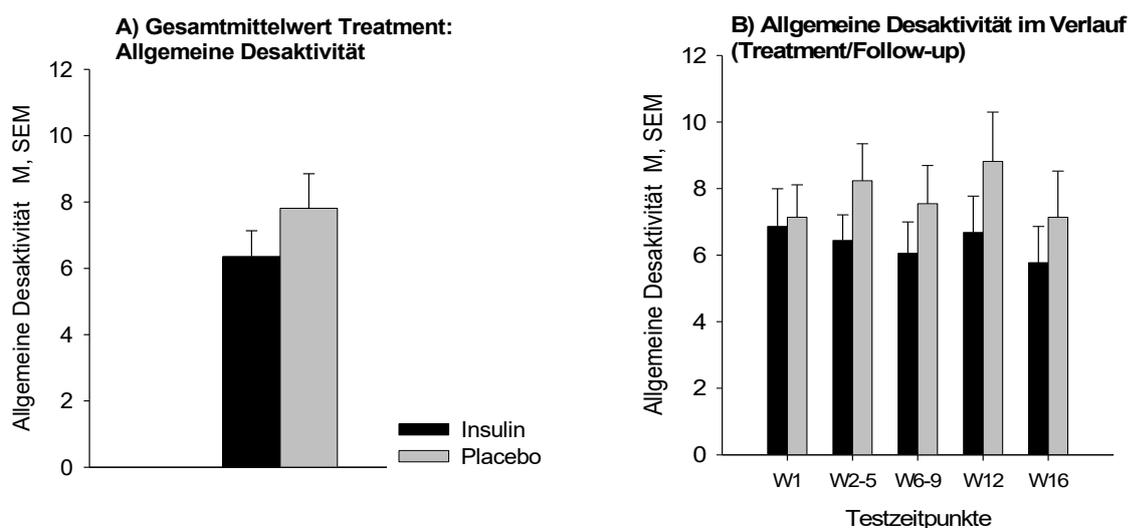


Abbildung 6: A-B: Dimension „Allgemeine Desaktivität“: A: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Gesamtgruppe. B: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Gesamtgruppe.

Auch bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht waren die Ergebnisse bei *Männern* und *Frauen* ähnlich: die Ausgangswerte waren vergleichbar. Gesamtmittelwerte des Treatments und die Werte im Verlauf unterschieden sich – entgegen der Erwartung - nicht relevant (Männer: alle  $U \geq 44.500$ , alle  $p \geq .234$ , Frauen: alle  $U \geq 49.00$ , alle  $p \geq .239$ ; Abb. 6C/D/E/F).

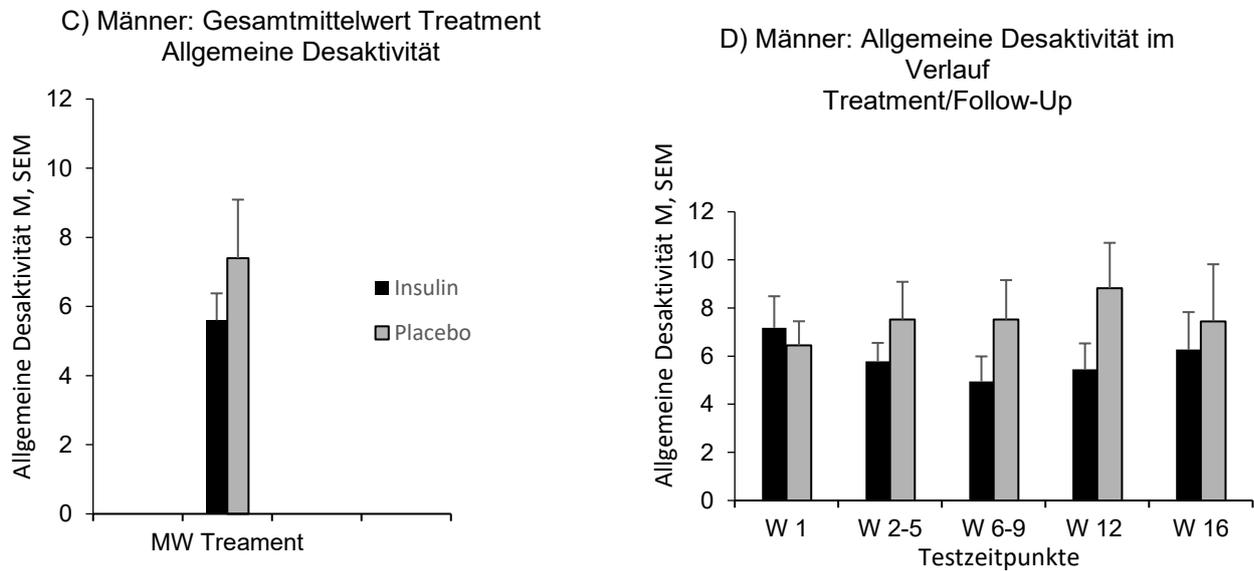


Abbildung 6: C-D: Dimension „Allgemeine Desaktivität“: C: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Männer. D: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Männer.

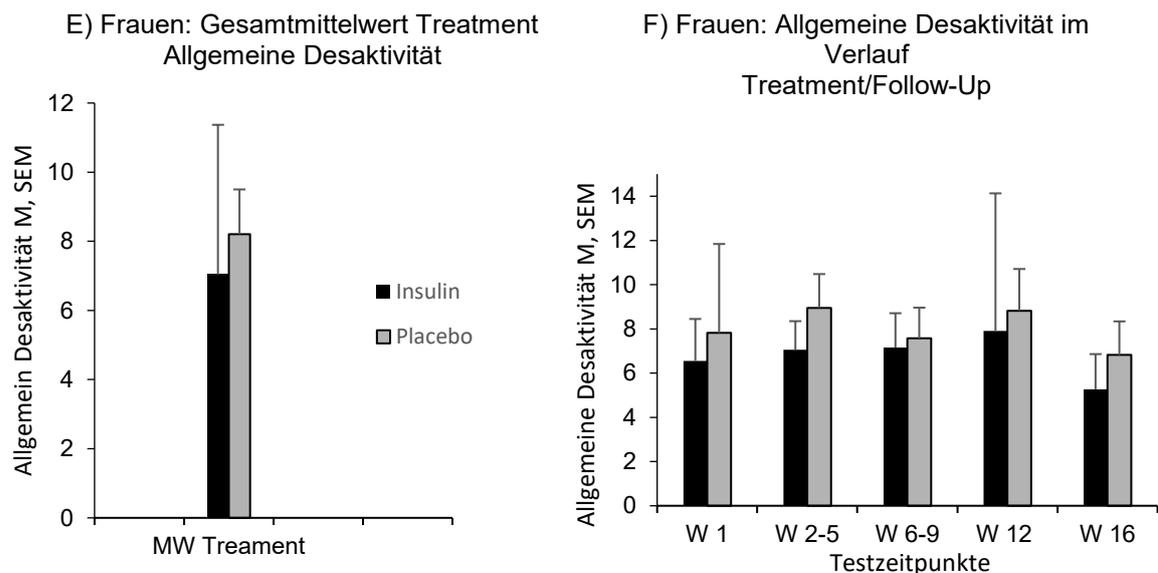


Abbildung 6: E-F: Dimension „Allgemeine Desaktivität“: E: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Frauen. F: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Frauen.

Bei Betrachtung möglicher Konditionierungseffekte zeigten sich in den verschiedenen Subgruppen keine Unterschiede (vgl. Tabelle14).

Tabelle 14: „Allgemeine Desaktivität“: Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) unterschieden nach Konditionierungsbedingungen im Follow-up.

Follow-up Zeitpunkt	Woche 12			Woche 16			
	Sprühbed.	Ins/Plac	Plac/Plac	p	Ins/Plac	Plac/Plac	p-Wert (einseitig)
Gesamt		6.50 ± 1.51	9.18 ± 2.27	.283	5.67 ± 1.48	6.82 ± 2.23	.464
Männer		4.50 ± 1.09	10.83 ± 3.85	.243	7.50 ± 2.09	8.00 ± 3.70	.409
Frauen		8.50 ± 2.68	7.20 ± 2.06	.466	3.83 ± 1.99	5.40 ± 2.42	.331
Sprühbed.		Ins/ -		p	Ins/Plac		p
		Ins/Plac	Ins/ -		Ins/Plac	Ins/ -	
Gesamt		6.50 ± 1.51	6.90 ± 1.66	.386	5.67 ± 1.48	5.90 ± 1.69	.487
Männer		4.50 ± 1.09	6.60 ± 2.02	.165	7.50 ± 2.09	4.80 ± 2.40	.269
Frauen		8.50 ± 2.68	7.20 ± 2.89	.331	3.83 ± 1.99	7.00 ± 2.55	.165

Anmerkungen: Ins: Insulin, Plac: Placebo, Sprühbed.: Sprühbedingung.

Sprühbedingungen: Ins/Plac = Insulin im Treatment, Placebo im Follow-up, Plac/Plac = Placebo im Treatment, Placebo im Follow-up, Ins/ - = Insulin im Treatment, keine Substanz im Follow-up.

### Extraversion/ Introversion

Im Ausgangswert (Woche 1) waren EG und KG vergleichbar (EG:  $M = 5.50 \pm 0.59$ , KG:  $M = 5.77 \pm 0.57$ ,  $U = 225.50$ ,  $z = -0.390$ ,  $p = .348$ ). Auch die inferenzstatistische Überprüfung der Gesamtmittelwerte der Treatmentphase unterschieden sich – entgegen der Erwartung – nicht (EG:  $M = 5.37 \pm 0.58$ , KG:  $M = 5.43 \pm 0.52$ ,  $U = 215.50$ ,  $z = -0.126$ ,  $p = .450$ ). Dies gilt auch für die zur Deskription berechneten Werte in den zusammengefassten Wochen der Treatmentphase. Im Follow-up hingegen zeigte die EG in Woche 12 einen höheren Wert als die KG mit einem  $p$ -Wert  $< .05$  ( $U = 170.50$ ,  $z = -1.695$ ,  $p = .045$ ), der Effekt war zum Ende des Follow-ups (Woche 16) aber nicht mehr sichtbar (Abb. 7A/B).

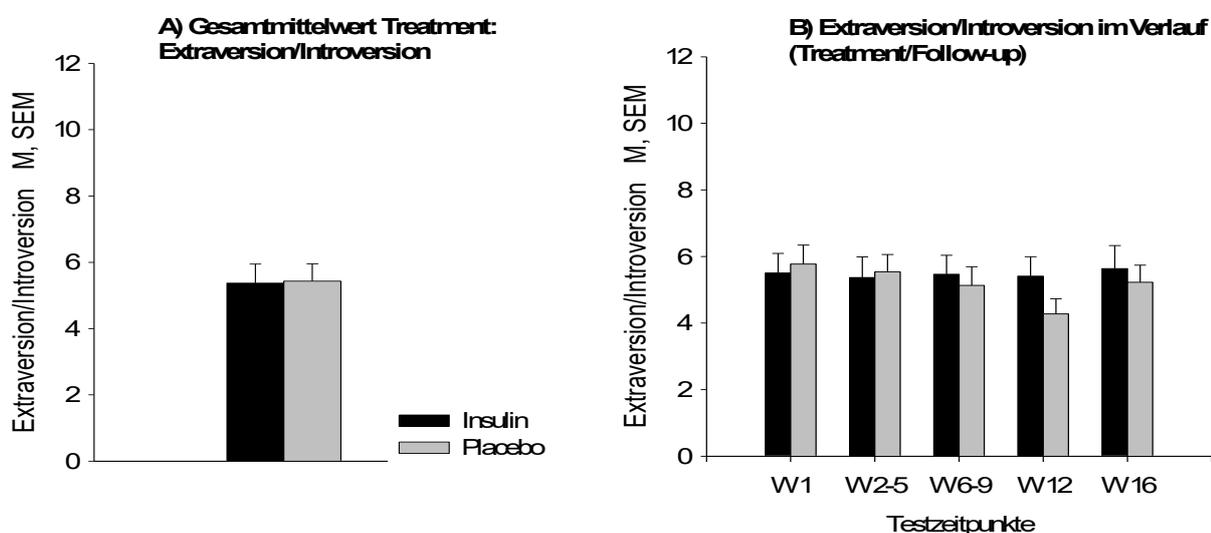


Abbildung 7: A-B: Dimension „Extraversion/Introversion“: A: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Gesamtgruppe. B: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Gesamtgruppe.

Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht wird deutlich, dass die beschriebenen Unterschiede in Woche 12 auf die *Männer* zurückzuführen sind: hier erzielte die EG in Woche 12 höhere Werte als die KG mit einem  $p$ -Wert  $< .10$  ( $U = 38.00$ ,  $z = -1.496$ ,  $p = .076$ ), aber nicht mehr in Woche 16 (Abb. 7C/D). Die übrigen Werte der Männer und Frauen – beginnend mit den Ausgangswerten, sowie Gesamtmittelwert des Treatments und die Werte im Verlauf – unterschieden sich nicht voneinander (weiblich: alle  $U \geq 46.50$ , alle  $p \geq .365$ ; Abb. 7E/F).

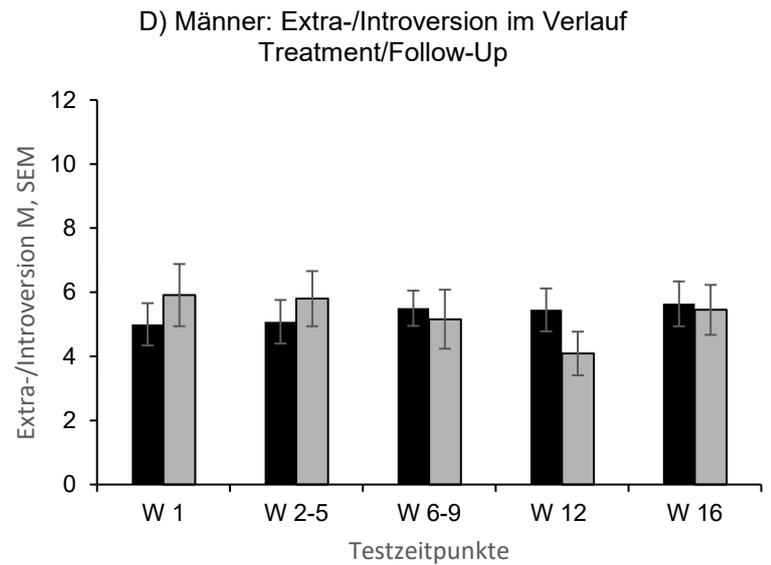
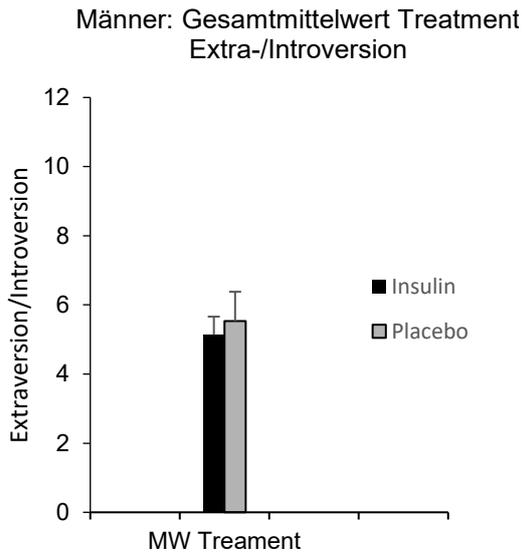


Abbildung 7: C-D: Dimension „Extraversion/Introversion“: C: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Männer. D: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Männer.

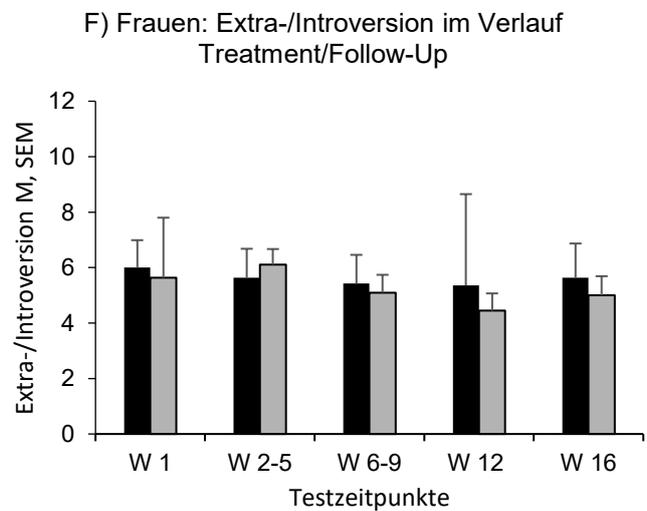
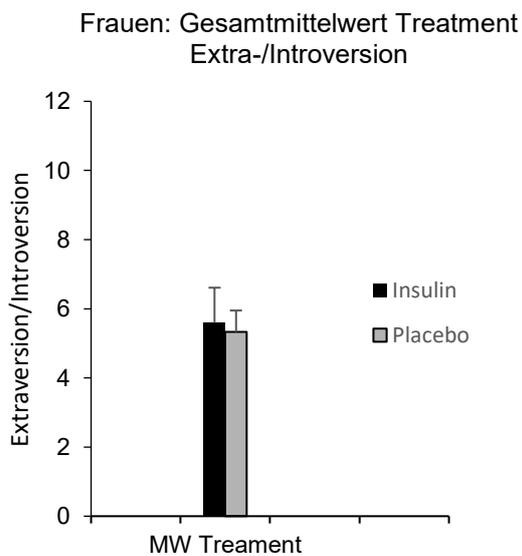


Abbildung 7: E-F: Dimension „Extraversion/Introversion“: E: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Frauen. F: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Frauen.

Bei Betrachtung der deskriptiven Werte zu Konditionierungseffekten zeigten sich für Woche 12 in der Gesamtgruppe Hinweise auf ein besseres Ergebnis der EG gegenüber der weiter-sprühenden KG ( $p = .059$ ), passend zu einer Beteiligung klassisch konditionierter

Insulineffekte bei den Insulin behandelten Pbn. Die übrigen Vergleiche waren statistisch nicht relevant (vgl. Tabelle 15).

Tabelle 15: „Extra-/Introversion“ Mittelwert (*M*) und Standardfehler (*SEM*) unterschieden nach Konditionierungsbedingungen im Follow-up.

Follow-up Zeit- punkt	Woche 12			Woche 16		
	Ins/Plac	Plac/Plac	p	Ins/Plac	Plac/Plac	p-Wert (einseitig)
Sprühbed.						
Gesamt	6.00 ± 0.83	4.45 ± 0.65	.059	6.42 ± 1.02	6.82 ± 2.23	.225
Männer	6.00 ± 0.68	4.83 ± 1.11	.197	6.00 ± 0.89	8.00 ± 3.70	.350
Frauen	6.00 ± 1.59	4.00 ± 0.63	.124	6.83 ± 1.92	5.40 ± 2.42	.124
Sprühbed.	Ins/Plac	Ins/ -	p	Ins/Plac	Ins/ -	p
Gesamt	6.00 ± 0.83	4.70 ± 0.80	.114	6.42 ± 1.02	4.70 ± 0.870	.173
Männer	6.00 ± 0.68	4.80 ± 1.24	.215	6.00 ± 0.89	5.20 ± 1.20	.396
Frauen	6.00 ± 1.59	4.60 ± 1.17	.331	6.83 ± 1.92	4.20 ± 1.36	.165

Anmerkungen: Ins: Insulin, Plac: Placebo, Sprühbed.: Sprühbedingung.

Sprühbedingungen: Ins/Plac = Insulin im Treatment, Placebo im Follow-up, Plac/Plac = Placebo im Treatment, Placebo im Follow-up, Ins/ - = Insulin im Treatment, keine Substanz im Follow-up.

### Allgemeines Wohlbefinden

Die Ausgangswerte in Woche 1 waren für EG und KG vergleichbar (EG:  $M = 8.18 \pm 0.94$ , KG:  $M = 8.09 \pm 0.81$ ,  $U = 233.50$ ,  $z = -0.200$ ,  $p = .421$ ). Die inferenzstatistisch berechneten Gesamtmittelwerte der Treatmentphase zeigten – entgegen der Erwartung – keinen Gruppenunterschied (EG:  $M = 8.07 \pm 0.811$ , KG:  $M = 7.79 \pm 0.86$ ,  $U = 193.50$ ,  $z = -0.911$ ,  $p = .181$ ). In den zur Deskription betrachteten Wochen im Verlauf zeigte sich ab Woche 6 jedoch der erwartete Gruppenunterschied mit höheren Werten in der EG im Vergleich zur KG (Woche 6-9:  $p = .064$ ), der dann erneut zu Beginn des Follow-ups (Woche 12:  $U = 160.00$ ,  $z = -1.931$ ,  $p = .027$ ) deutlich wurde (Abb. 8A/B).

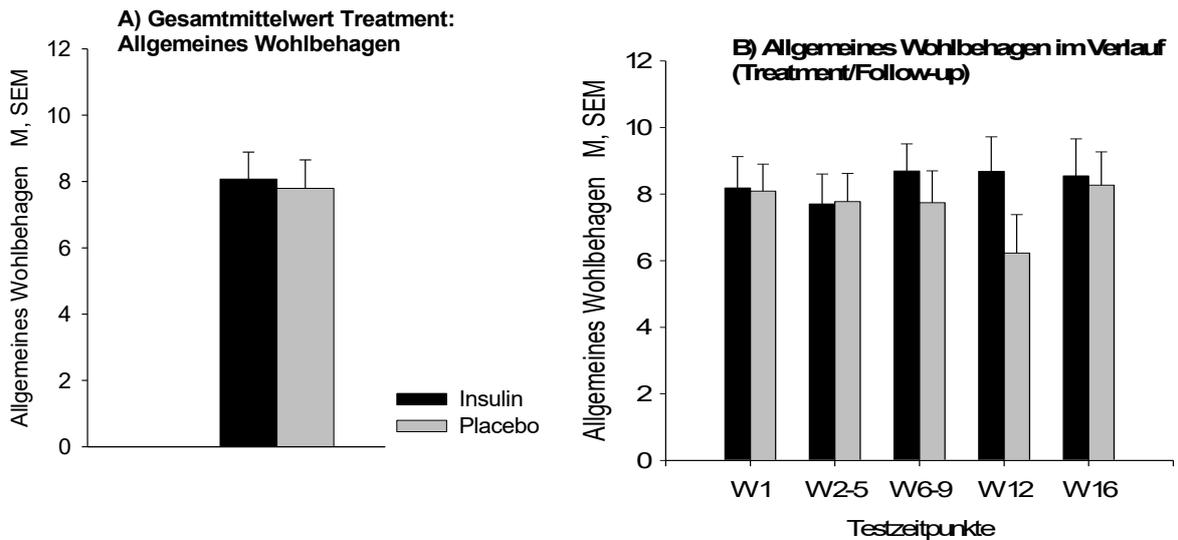


Abbildung 8: A-B: Dimension „Allgemeines Wohlbehagen“ A: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Gesamtgruppe. B: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Gesamtgruppe.

Bei den *Männern* waren die Ausgangswerte vergleichbar. Auch unterschieden sich die Werte von EG und KG zu sämtlichen Zeitpunkten nicht relevant voneinander (alle  $U \geq 42.00$ , alle  $p \geq .194$ , vgl. Abb. 8 C/D).

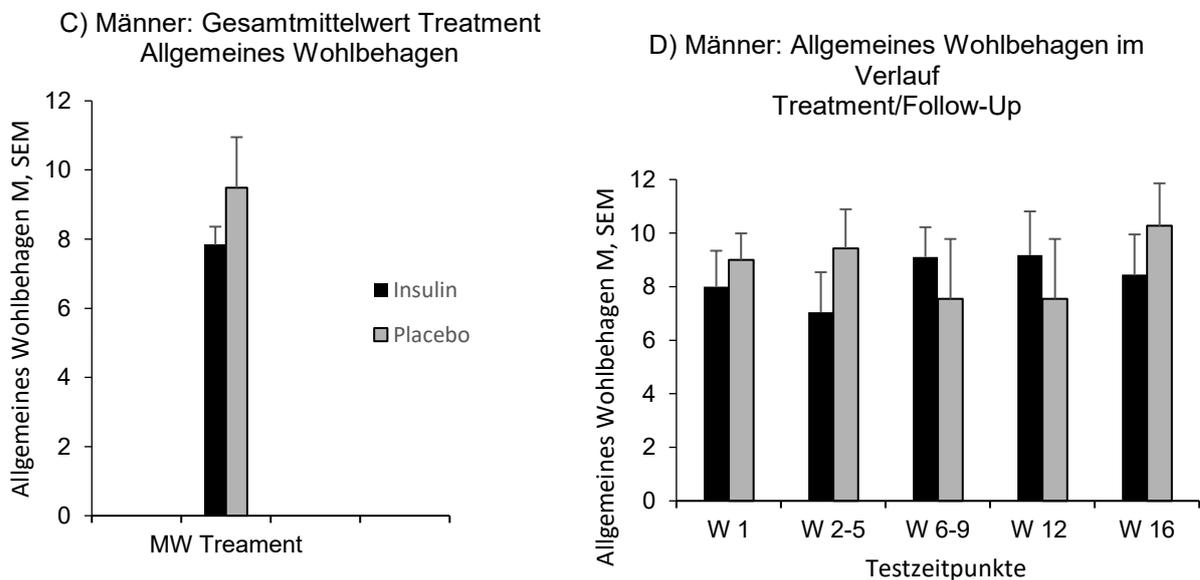


Abbildung 8: C-D: Dimension „Allgemeines Wohlbehagen“ C: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Männer. D: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Männer.

Bei den *Frauen* allerdings lagen deutliche Unterschiede zwischen EG und KG vor: während sich die Ausgangswerte – und damit vor Einsatz der langzeitlichen Insulingabe – nicht

unterschieden (EG:  $M = 8.36 \pm 1.39$ , KG:  $M = 7.18 \pm 1.26$ ,  $U = 56.00$ ,  $z = -0.296$ ,  $p = .399$ ), lag der Gesamtmittelwert der Treatmentphase der EG – wie erwartet - signifikant über dem Wert der KG (EG:  $M = 8.29 \pm 3.54$ , KG:  $M = 6.09 \pm 2.05$ ,  $U = 34.00$ ,  $z = -1.742$ ,  $p = .044$ ). Dies manifestiert sich auch in den zur Deskription zusammengefassten Wochen im Verlauf (Abb. 8E/F): angedeutet in den Wochen 2-5 und 6-9, in Follow-up Woche 12 wurde der Unterschied mit einem  $p$ -Wert unter  $.025$  deutlicher, während er in Woche 16 nicht mehr sichtbar war (W2-5:  $U = 37.00$ ,  $z = -1.545$ ,  $p = .067$ ; W6-9:  $U = 35.00$ ,  $z = -1.675$ ,  $p = .051$ ; W12:  $U = 30.00$ ,  $z = -2.018$ ,  $p = .024$ ; W16:  $U = 44.50$ ,  $z = -1.059$ ,  $p = .150$ ).

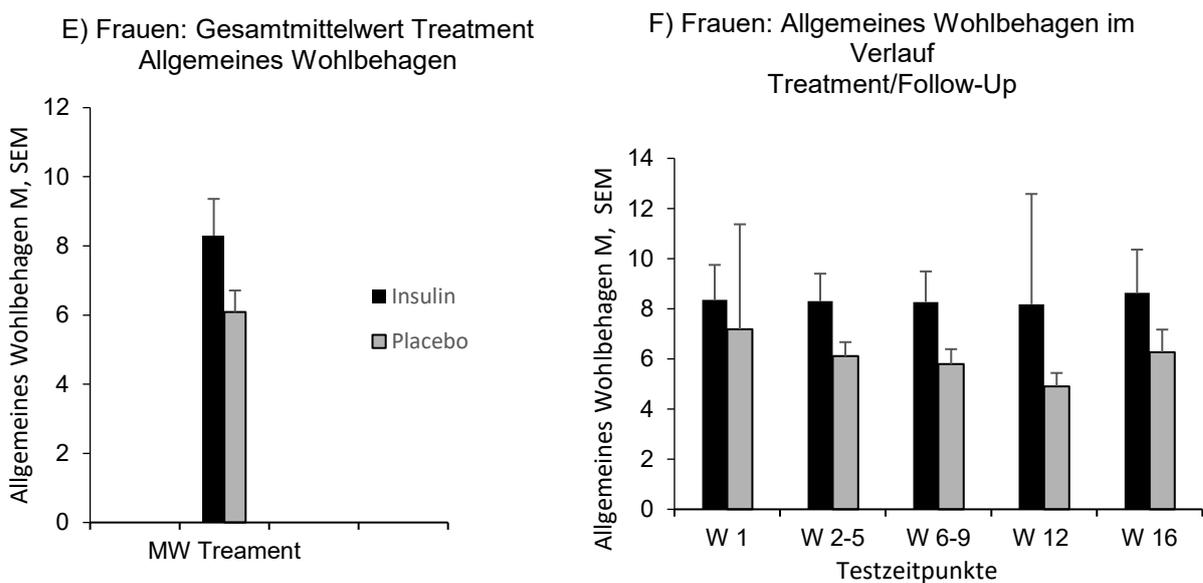


Abbildung 8: E-F: Dimension „Allgemeines Wohlbehagen“ E: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Frauen. F: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Frauen.

Bei Betrachtung von Konditionierungseffekten zeigte sich in den zur Deskription durchgeführten Analysen erste Hinweise, dass die Pbn der EG verglichen mit der KG (beide Placebo im Follow-up) bessere Ergebnisse in Woche 12 in der Gesamtgruppe hatten ( $p = .067$ ). Dies war auf die Frauen zurückzuführen ( $p = .063$ ), dieser richtungsmäßige Effekt war in Woche 16 bei den Frauen weiterhin nachweisbar ( $p = .063$ ). Dies spricht dafür, dass bei den Insulin behandelten Pbn der Gesamtgruppe (für Woche 12) und - deutlicher noch - bei den Frauen (Wochen 12 und 16) Konditionierungseffekte an den besseren Befindlichkeitswerte im Follow-up beteiligt waren. Die Vergleiche der Subgruppen der EG (Ins/Plac vs. Ins / - ) unterschieden sich nicht relevant (vgl. Tabelle 16).

Tabelle 16: „Allgemeines Wohlbefinden“ Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) unterschieden nach Konditionierungsbedingungen im Follow-up.

Follow-up Zeitpunkt	Woche 12			Woche 16		
Sprühbed.	Ins-Plac	Plac-Plac	p	Ins-Plac	Plac-Plac	p
Gesamt	9.50 ± 1.42	6.73 ± 2.21	.067	9.58 ± 1.59	9.09 ± 1.79	.244
Männer	10.67 ± 1.96	9.00 ± 3.89	.295	8.83 ± 2.02	12.50 ± 2.49	.295
Frauen	8.33 ± 2.12	4.00 ± 0.84	.063	10.33 ± 2.62	5.00 ± 0.78	.063
Sprühbed.	Ins/Plac	Ins/ -	p	Ins/Plac	Ins/ -	p
Gesamt	9.50 ± 1.42	7.70 ± 1.54	.191	9.58 ± 1.59	7.30 ± 1.53	.157
Männer	10.67 ± 1.96	7.40 ± 2.71	.165	8.83 ± 2.02	8.00 ± 2.49	.396
Frauen	8.33 ± 2.12	8.00 ± 1.82	.396	10.33 ± 2.62	6.60 ± 2.02	.124

Anmerkungen: Ins: Insulin, Plac: Placebo, Sprühbed.: Sprühbedingung.

Sprühbedingungen: Ins/Plac = Insulin im Treatment, Placebo im Follow-up, Plac/Plac = Placebo im Treatment, Placebo im Follow-up, Ins/ - = Insulin im Treatment, keine Substanz im Follow-up.

### Emotionale Gereiztheit

In Ausgangswoche 1 waren EG und KG vergleichbar (EG:  $M = 2.50 \pm 0.85$ , KG:  $M = 3.09 \pm 0.83$ ,  $U = 212.00$ ,  $z = -0.724$ ,  $p = .235$ ). Für den Gesamtmittelwert der Treatmentphase ergab sich – entgegen der Erwartung - ebenfalls kein Unterschied zwischen EG und KG (EG:  $M = 2.62 \pm 0.52$ , KG:  $M = 2.93 \pm 0.66$ ,  $U = 219.00$ ,  $z = -0.038$ ,  $p = .485$ ). Ebenso wenig zeigten sich Unterschiede in den zusammengefassten Abschnitten der Treatmentphase und auch im Follow-up blieben die Unterschiede zwischen Insulin- vs. Placebo Behandlung unbedeutend, wengleich richtungsmäßig - den Erwartungen entsprechend - mit geringerer Gereiztheit in der Insulin behandelten EG (Abb. 9 A/B).

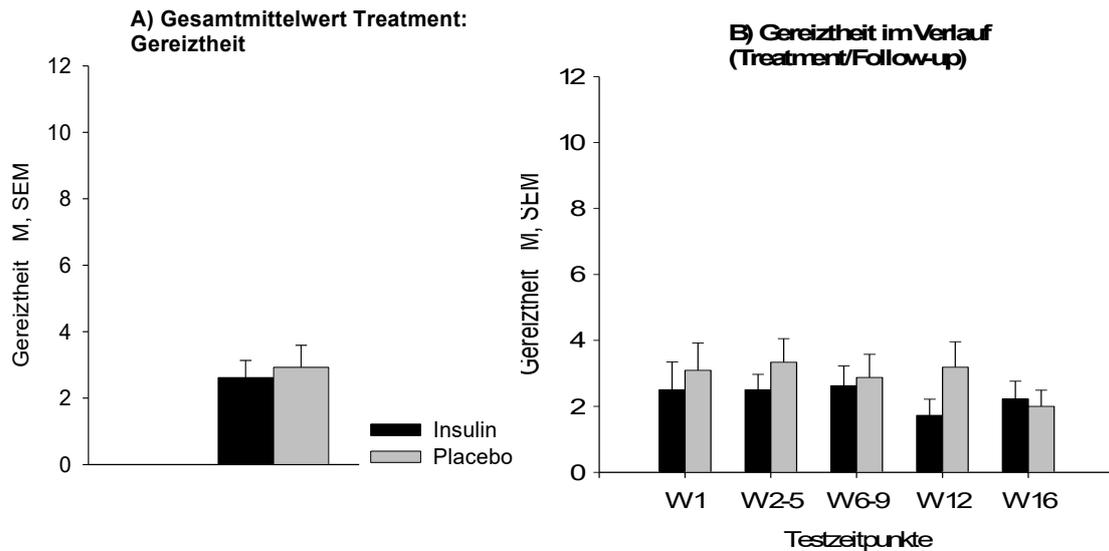


Abbildung 9: A-B: Dimension „Emotionale Gereiztheit“: A: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Gesamtgruppe. B: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Gesamtgruppe.

Auch bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigten sich sowohl bei *Männern* als auch bei *Frauen* keine relevanten Unterschiede zwischen EG und KG bei Ausgangswerten, Gesamtmittelwerten und den Werten im Verlauf, wenngleich die Insulin behandelten Männer im Verlauf konstant niedrigere Werte der Gereiztheit aufzeigten (Männer: alle  $U \geq 47.00$ , alle  $p \geq .201$ , Frauen alle  $U \geq 43.00$ , alle  $p \geq .135$ , Abb. 9 C-F).

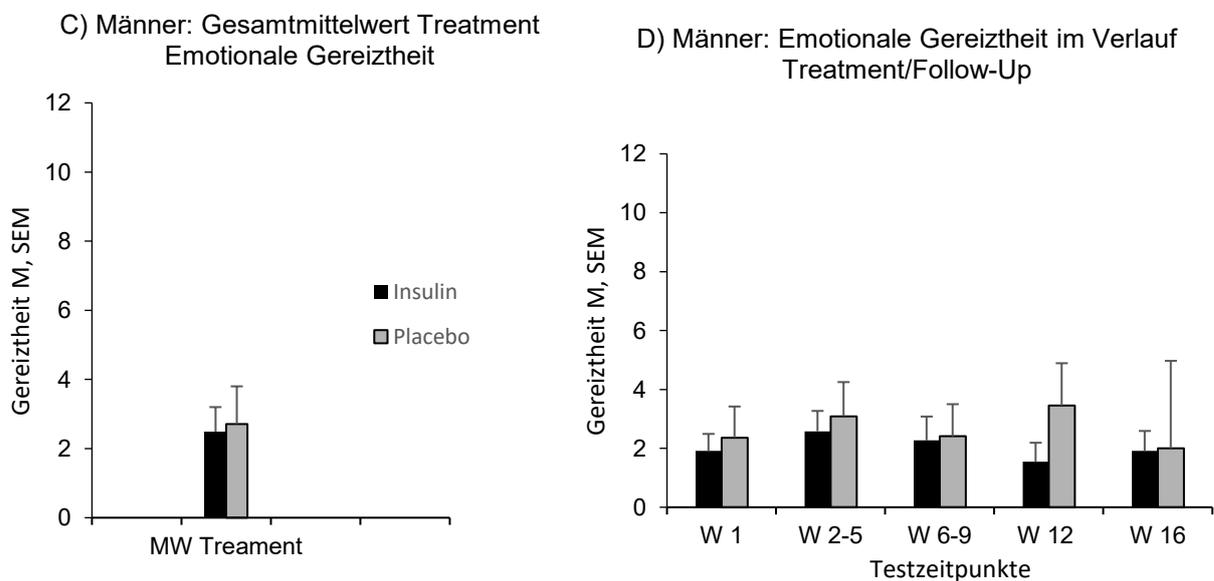


Abbildung 9: C-D: Dimension „Emotionale Gereiztheit“ C: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Männer. D: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Männer.

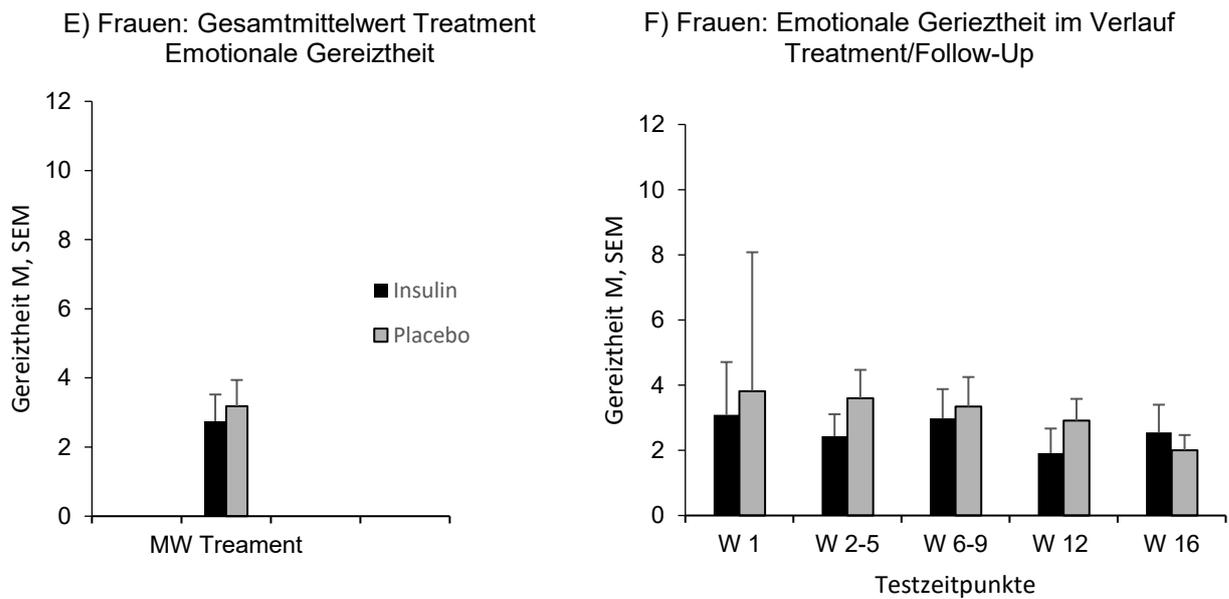


Abbildung 9: E-F: Dimension „Emotionale Gereiztheit“ E: Gesamtmittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) der Treatmentphase: Frauen. F: Mittelwerte ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) zusammengefasster Wochen: Frauen.

Interessante Ergebnisse liefert die explorative Analyse möglicher Konditionierungseffekte: Bei Betrachtung der Männer zeigte die EG verglichen mit der KG (beide Placebo im Follow-up) deutlich niedrigere Werte der Gereiztheit in Woche 12 ( $p = .047$ ). Auch beim Vergleich innerhalb der EG (Ins/Plac vs. Ins/ - ) waren die Werte der *weilersprühenden* EG in Woche 12 niedriger ( $p = .089$ , vgl. Tabelle 17). Es liegen somit Hinweise auf eine klassisch konditionierte niedrigere Gereiztheit bei den Männern der EG vor.

Bei den Frauen gab es keine Unterschiede (alle  $p$ -Werte  $\geq .269$ , vgl. Tabelle 26)

Tabelle 17: „Emotionale Gereiztheit“ Mittelwert ( $M$ ) und Standardfehler ( $SEM$ ) unterschieden nach Konditionierungsbedingungen im Follow-up.

Follow-up Zeitpunkt	Woche 12			Woche 16		
	Ins/Plac	Plac/Plac	p	Ins/Plac	Plac/Plac	p
Gesamt	1.75 ± 0.73	3.09 ± 1.37	.190	1.92 ± 0.73	2.45 ± 0.90	.326
Männer	0.67 ± 0.52	4.33 ± 2.40	.047	1.17 ± 0.65	2.67 ± 1.59	.295
Frauen	2.83 ± 1.30	1.60 ± 0.81	.331	2.67 ± 1.31	2.20 ± 0.80	.500
Sprühbed.	Ins/Plac	Ins/-	p	Ins/Plac	Ins/ -	p
Gesamt	1.75 ± 0.73	1.70 ± 0.65	.337	1.92 ± 0.73	2.60 ± 0.81	.249
Männer	0.67 ± 0.52	2.60 ± 1.21	.089	1.17 ± 0.65	2.80 ± 1.24	.165
Frauen	2.83 ± 1.30	0.80 ± 0.20	.269	2.67 ± 1.31	2.40 ± 1.17	.466

Anmerkungen: Ins: Insulin, Plac: Placebo, Sprühbed.: Sprühbedingung.

Sprühbedingungen: Ins/Plac= Insulin im Treatment, Placebo im Follow-up, Plac/Plac = Placebo im Treatment, Placebo im Follow-up, Ins/ - = Insulin im Treatment, keine Substanz im Follow-up.

### Angst

Bei der Dimension „Angst“ unterschieden sich die Ausgangswerte nicht (EG:  $M = 3.23 \pm 0.78$ , KG:  $M = 4.00 \pm 0.94$ ,  $U = 228.00$ ,  $z = -0.333$ ,  $p = .370$ ). Entgegen der Erwartung unterschieden sich aber auch der Gesamtmittelwert der Treatmentphase (EG:  $M = 3.68 \pm 0.60$ , KG:  $M = 4.22 \pm 1.05$ ,  $U = 195.00$ ,  $z = -0.392$ ,  $p = .348$ ) und auch im Verlauf EG und KG nicht relevant voneinander, wenngleich richtungsmäßig über den gesamten Verlauf niedrigere Angstwerte in der EG zu beobachten waren.

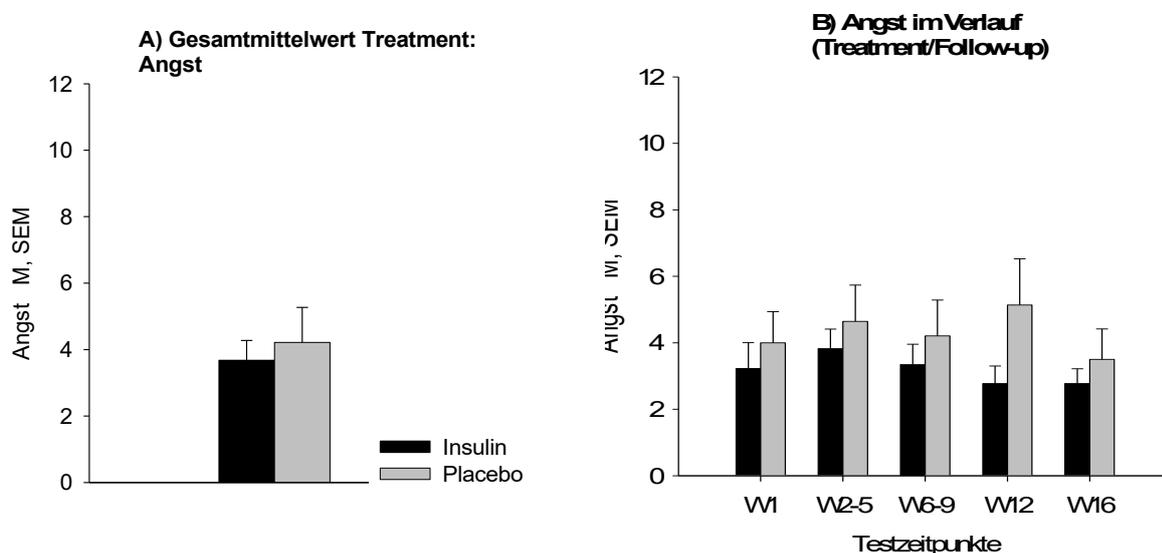


Abbildung 10: A-B: Dimension „Angst“: A: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Gesamtgruppe. B: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Gesamtgruppe.

Auch bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigten sich sowohl bei *Männern* als auch bei *Frauen* keine relevanten Unterschiede zwischen EG und KG bei Ausgangswerten, Gesamtmittelwerten und den Werten im Verlauf (männlich: alle  $U \geq 46.50$ , alle  $p \geq .183$ , weiblich: alle  $U \geq 46.00$ , alle  $p \geq .279$ , Abb. 10 C-F), wobei die Angstwerte der männlichen EG über den gesamten Verlauf niedriger waren als die der KG (aber statistisch nicht bedeutsam).

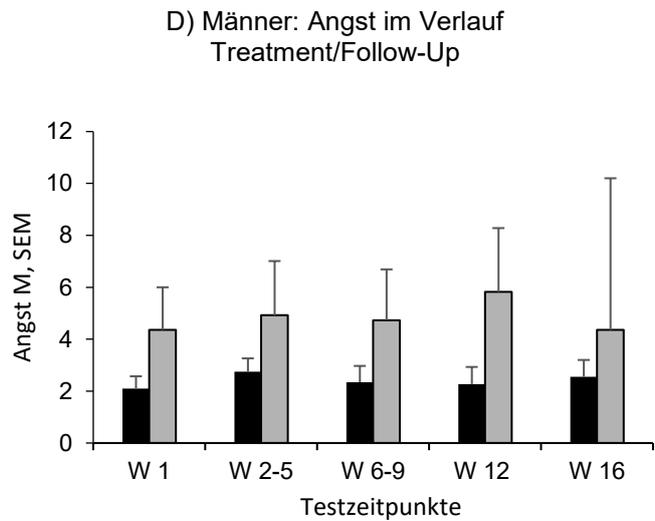
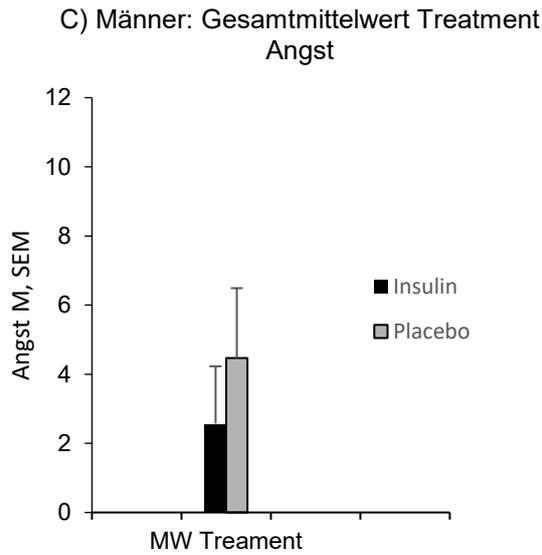


Abbildung 10: C-D: Dimension „Angst“: C: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Männer. D: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Männer.

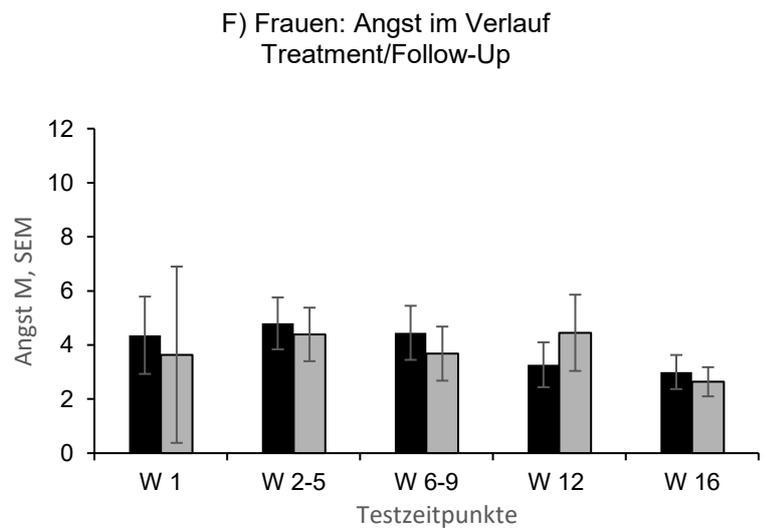
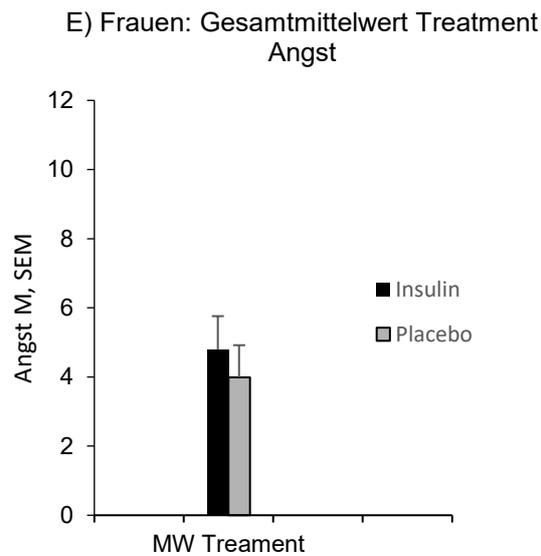


Abbildung 10: E-F: Dimension „Angst“: E: Gesamtmittelwert (M) und Standardfehler (SEM) der Treatmentphase: Frauen. F: Mittelwerte (M) und Standardfehler (SEM) zusammengefasster Wochen: Frauen.

Allerdings liefert auch hier die explorative Zusatzanalyse auf mögliche Konditionierungseffekte Hinweise auf Gruppenunterschiede im Follow-up. Bei EG und KG der Männer, die im Follow-up jeweils weitersprühten (Ins/Plac vs. Plac/Plac), waren in Woche 12 die zur Deskription berechneten Angst-Werte der EG niedriger ( $p = .090$ ), was auf klassisch konditionierte Effekte niedrigerer Ängstlichkeit hindeutet.

Bei den Frauen zeigte sich ein umgekehrter Effekt, die EG hatte gegenüber der KG (beide Placebo im Follow-up) höhere Angst-Werte ( $p = .026$ ) in Woche 12. Bei der Unterscheidung der Subgruppen innerhalb der EG (Ins/Plac vs. Ins/ - ) waren die Frauen, die im Follow-up weitersprühten in Woche 12 ebenfalls ängstlicher ( $p = .041$ ; vgl. Tab 18).

Tabelle 18: „Angst“ Mittelwert (M) und Standardfehler (SEM) unterschieden nach Konditionierungsbedingungen im Follow-up.

Follow-up Zeitpunkt	Woche 12			Woche 16		
	Ins/Plac	Plac/Plac	p	Ins/Plac	Plac/Plac	p
Sprühbed.						
Gesamt	3.08 ± 0.76	5.55 ± 2.46	.190	2.67 ± 0.63	4.18 ± 1.65	.417
Männer	1.50 ± 0.76	8.50 ± 4.23	.090	2.00 ± 0.82	6.00 ± 2.85	.155
Frauen	4.67 ± 0.99	2.00 ± 0.71	.026	3.33 ± 0.96	2.00 ± 0.70	.165
Sprühbed.	Ins/Plac	Ins/ -	p	Ins/Plac	Ins/ -	p
Gesamt	3.08 ± 0.76	2.40 ± 0.75	.270	2.67 ± 0.63	2.90 ± 0.66	.462
Männer	1.50 ± 0.76	3.20 ± 1.07	.124	2.00 ± 0.82	3.20 ± 1.07	.215
Frauen	4.67 ± 0.99	1.60 ± 1.03	.041	3.33 ± 0.96	2.60 ± 0.87	.269

Anmerkungen: Ins: Insulin, Plac: Placebo, Sprühbed.: Sprühbedingung.

Sprühbedingungen: Ins/Plac= Insulin im Treatment, Placebo im Follow-up, Plac/Plac = Placebo im Treatment, Placebo im Follow-up, Ins/ - = Insulin im Treatment, keine Substanz im Follow-up.

**Fazit Befindlichkeit:** In den positiven Befindlichkeitsdimensionen („Leistungsbezogene Aktivität“, „Extra-/Introversion“ und „Allgemeines Wohlbehagen“) zeigte sich der erwartete Unterschied (hier im Sinne einer besseren Befindlichkeit) der EG gegenüber der KG. Interessant ist dabei, dass der Unterschied erst im Verlauf ab Woche 6-9 und am Deutlichsten in Follow-up Woche 12 auftritt. Dabei manifestieren sich die Effekte der Substanzgabe mit geschlechtsspezifisch differentieller Sensitivität, nämlich für Frauen in der Dimension „Leistungsbezogene Aktivität“ und besonders deutlich in der Dimension „Allgemeines Wohlbehagen“ und für Männer in der Dimension „Extra-/Introversion“.

In den negativen Befindlichkeitsdimensionen („Allgemeine Desaktivität“, „Emotionale Gereiztheit“ und „Angst“) konnten keine relevanten Unterschiede zwischen EG und KG festgestellt werden.

Die Daten zu Konditionierungseffekten sind nicht einheitlich. Allerdings zeigt die explorative Zusatzanalyse in einigen Befindlichkeitsdimensionen Hinweise auf klassisch konditionierte Insulineffekte: bei den Dimensionen „Leistungsbezogene Aktivität“, „Extra-/Introversion“ und „Allgemeines Wohlbehagen“ manifestierten sich verbesserte Befindlichkeitswerte im Verlauf und v.a. im Follow-up. Beim Vergleich der einzelnen Subgruppen waren in der Gesamtgruppe und bei Frauen Hinweise auf konditionierte Insulineffekte erkennbar. In den Dimensionen

„Emotionale Gereiztheit“ und „Angst“ war dies bei Männern zu sehen: Männer der EG, die im Follow-up weiterhin Placebo sprühten waren weniger gereizt und ängstlich, was ebenfalls auf Konditionierungseffekte hindeutet.

#### 3.4.2 Korrelation zwischen Befindlichkeit und peripheren Hormonspiegeln: Explorative Zusatzanalysen

Im Sinne korrelativer explorativer Zusatzanalysen wurde die Befindlichkeit mit den peripheren Insulin- und Östradiolspiegeln korreliert. Die Fragestellung ist erneut explorativ, da bisher keine Daten zu dieser Fragestellung vorliegen. Die  $p$ -Werte werden daher zweiseitig angegeben. Zur übersichtlicheren Darstellung erfolgte die Berechnung der Korrelation bzgl. der Befindlichkeit anhand des Gesamtmittelwertes des Treatments (Wochen 1-9) bzw. den Werten der Wochen 12 und 16 einerseits und den zeitgleich gemessenen Insulin- bzw. Östradiolspiegeln.

##### *Insulin*

Um substanzspezifische Zusammenhänge zwischen der Befindlichkeit und den peripheren Insulinspiegeln zu untersuchen, wurden Rangkorrelationen nach Spearman für die intranasal Insulin- und Placebo behandelten Gruppen für Gesamtgruppe und getrennt für Männer und Frauen berechnet. Die einzelnen Befindlichkeitsfaktoren wurden mit dem Gesamtmittelwert der Hormonwerte der Treatmentphase sowie den Werten aus Woche 12 und Woche 16 korreliert. Die Werte wurden zur Deskription berechnet.

##### *Leistungsbezogene Aktivität*

In der EG *Gesamtgruppe* zeigten sich – entgegen der Erwartung – lediglich negative Korrelationen, die in Follow-up Woche 12 einen  $p$ -Wert unter .05 erreichte ( $r_s = -.521$ ,  $p = .009$ ). Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigte sich bei der EG *Frauen* zu jedem Messzeitpunkt eine negative Korrelation, die Werte im Follow-up erreichten  $p$ -Werte  $< .10$  (Woche 12:  $r_s = -.581$ ,  $p = .061$ , Woche 16:  $r_s = -.542$ ,  $p = .085$ ). Bei den Insulin behandelten Männern lag keine relevante Korrelation vor.

In der KG *Gesamtgruppe* lag in Woche 16 eine deutlich negative Korrelation vor ( $r_s = -.435$ ,  $p = .049$ ). Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigte sich bei den *Männern* kein relevantes Ergebnis in Treatment und Follow-up. Bei den *Frauen* zeigte sich nur in Woche 16 eine negative Korrelation, die einen  $p$ -Wert  $< .05$  unterschritt ( $r_s = -.646$ ,  $p = .032$ ). Beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten der jeweiligen Insulin- vs. Placebogruppe ( $\chi^2$ -Testung) wurden keine Hinweise auf Gruppenunterschiede gezeigt. Sämtliche Werte wurden zur Deskription berichtet. Tabelle 19 gibt einen Überblick über die Ergebnisse.

Tabelle 19: Gesamtgruppe/Männer/Frauen: „Leistungsbezogene Aktivität“: Korrelationskoeffizienten (Spearman´sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Insulinspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Gesamt		Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^a = -.327$ $p = .147$	$r_s^a = -.008$ $p = .971$	$r_s^c = -.243$ $p = .498$	$r_s = .464$ $p = .151$	$r_s = -.264$ $p = .433$	$r_s^c = -.573[*]$ $p = .083$
Woche 12	$r_s = -.541^{**}$ $p = .009$	$r_s = -.023$ $p = .919$	$r_s = -.521$ $p = .101$	$r_s = .238$ $p = .481$	$r_s = -.581[*]$ $p = .061$	$r_s = -.096$ $p = .778$
Woche 16	$r_s = -.332$ $p = .131$	$r_s = -.435^*$ $p = .049$	$r_s = -.332$ $p = .131$	$r_s = -.116$ $p = .750$	$r_s = -.542[*]$ $p = .085$	$r_s = -.646^*$ $p = .032$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman.

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

#### Allgemeine Desaktivität

Bei der Gesamtgruppe waren bei den - zur Deskription berechneten Werten - weder im Treatment noch im Follow-up relevante Korrelationen zu sehen. Bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigten sich differentielle Effekte: In der Gruppe der Insulin behandelten Männer lag eine deutliche positive Korrelation zwischen Insulinspiegel und Mittelwert der Treatmentphase vor ( $r_s = .782$ ,  $p = .008$ ). Im Follow-up war diese Korrelation nicht reproduzierbar. Bei den Frauen zeigten sich weder im Treatment noch im Follow-up relevante Korrelationen (vgl. Tabelle 20). Auch beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten (Insulin vs. Placebo) mittels  $Chi^2$ -Testung verfehlten sämtliche Vergleiche einen p-Wert  $< .05$ .

Tabelle 20: Gesamtgruppe/Männer/Frauen: „Allgemeine Desaktivität“: Korrelationskoeffizienten (Spearman´sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Insulinspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Gesamt		Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^a = .179$ $p = .437$	$r_s^a = .119$ $p = .608$	$r_s^c = .782^{**}$ $p = .008$	$r_s = .409$ $p = .212$	$r_s = -.191$ $p = .574$	$r_s^c = -.309$ $p = .385$
Woche 12	$r_s = .179$ $p = .425$	$r_s = .074$ $p = .743$	$r_s = .467$ $p = .148$	$r_s = -.174$ $p = .610$	$r_s = -.128$ $p = .708$	$r_s = .356$ $p = .283$
Woche 16	$r_s = -.163$ $p = .469$	$r_s = .157$ $p = .484$	$r_s = -.430$ $p = .187$	$r_s = .189$ $p = .579$	$r_s = .142$ $p = .677$	$r_s = .030$ $p = .931$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

### Extra-/Introversion

Bei Gesamtgruppe und auch bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht waren weder in Treatment noch im Follow-up systematische korrelative Befunde zu beobachten (Werte zur Deskription berichtet, vgl. Tabelle 21). Auch beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten der jeweiligen Insulin- vs. Placebogruppe mittels  $Chi^2$ -Testung wurden keine Hinweise auf Gruppenunterschiede gezeigt.

Tabelle 21: Gesamtgruppe/Männer/Frauen: „Extra-/Introversion“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation,  $p$ -Werte zweiseitig) zwischen peripheren Insulinspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Gesamt		Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^a = -.140$ $p = .545$	$r_s^b = .094$ $p = .693$	$r_s^c = .310$ $p = .383$	$r_s = .318$ $p = .340$	$r_s = -.369$ $p = .264$	$r_s^d = -.109$ $p = .781$
Woche 12	$r_s = -.228$ $p = .308$	$r_s = -.071$ $p = .752$	$r_s = -.073$ $p = .832$	$r_s = -.357$ $p = .281$	$r_s = -.364$ $p = .271$	$r_s = .083$ $p = .809$
Woche 16	$r_s = -.212$ $p = .345$	$r_s = .364$ $p = .105$	$r_s = .072$ $p = .834$	$r_s = .085$ $p = .805$	$r_s = -.403$ $p = .219$	$r_s = -.331$ $p = .320$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

$p$ -Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

### Allgemeines Wohlbefinden

Bei der EG (Gesamt/Männer) waren sämtliche – zur Deskription berechnete – Korrelationen ohne relevante Ergebnisse. Bei den Frauen war lediglich in Woche 16 eine negative Korrelation mit einem  $p$ -Wert unter .10 zu sehen (entgegen der Erwartung). Bei KG ergaben sich keine relevanten Ergebnisse (vgl. Tabelle 22), ebenso beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten von Insulin- und Placebo behandelten Pbn mittels  $Chi^2$ -Testung.

Tabelle 22: Gesamtgruppe/Männer/Frauen: „Allgemeines Wohlbefinden“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Insulinspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Gesamt		Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^a = -.079$ $p = .733$	$r_s^a = -.183$ $p = .426$	$r_s^c = -.030$ $p = .934$	$r_s = .209$ $p = .537$	$r_s = -.064$ $p = .853$	$r_s^c = -.522$ $p = .122$
Woche 12	$r_s = -.208$ $p = .354$	$r_s = .180$ $p = .423$	$r_s = -.179$ $p = .599$	$r_s = .215$ $p = .526$	$r_s = -.166$ $p = .627$	$r_s = .021$ $p = .951$
Woche 16	$r_s = -.343$ $p = .118$	$r_s = .002$ $p = .608$	$r_s = -.332$ $p = .995$	$r_s = -.005$ $p = .989$	$r_s = -.579[*]$ $p = .062$	$r_s = -.227$ $p = .501$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

### Emotionale Gereiztheit

Bei der EG der Gesamtgruppe lag kein einheitliches Korrelationsmuster vor. Bei der KG der Gesamtgruppe allerdings zeigte sich nur in den zusammengefassten Wochen des Treatments eine positive Korrelation mit  $p < .10$ . Dies war auch bei den *Männern* zu sehen ( $r_s = .555$ ,  $p = .077$ ). Im Follow-up war nur bei der Placebo behandelten Gesamtgruppe in Woche 16 eine negative Korrelation zu sehen ( $r_s = -.364$ ,  $p = .096$ ). Bei den Frauen ergaben sich weder bei EG noch bei KG relevante Korrelationen (vgl. Tabelle 23). Beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten mittels  $Chi^2$ -Testung wurden keine Hinweise auf Gruppenunterschiede gezeigt. Sämtliche Werte wurden zur Deskription berichtet.

Tabelle 23: Gesamtgruppe/Männer/Frauen: „Emotionale Gereiztheit“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Insulinspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Gesamt		Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^a = -.079$ $p = .733$	$r_s^b = .387[*]$ $p = .092$	$r_s^c = .224$ $p = .533$	$r_s = .555[*]$ $p = .077$	$r_s = -.260$ $p = .441$	$r_s^d = .126$ $p = .748$
Woche 12	$r_s = .117$ $p = .604$	$r_s = -.026$ $p = .908$	$r_s = .305$ $p = .362$	$r_s = -.098$ $p = .775$	$r_s = -.202$ $p = .551$	$r_s = -.104$ $p = .761$
Woche 16	$r_s = -.066$ $p = .771$	$r_s = -.364[*]$ $p = .096$	$r_s = -.106$ $p = .757$	$r_s = -.334$ $p = .316$	$r_s = -.098$ $p = .775$	$r_s = -.443$ $p = .172$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

## Angst

Bei EG Gesamtgruppe und *Männer* lag beim Mittelwert Treatment eine positive Korrelation vor mit einem  $p$ -Wert  $< .10$  vor. Bei den Männern war dies auch in Woche 12 nachweisbar (vgl. Tabelle 24). Bei Frauen und beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten mittels  $Chi^2$ -Testung ergaben sich keine  $p$ -Werte  $< .05$  in den zur Deskription durchgeführten Vergleichen.

Tabelle 24: *Gesamtgruppe/Männer/Frauen: „Angst“: Korrelationskoeffizienten (Spearman´sche Rangkorrelation,  $p$ -Werte zweiseitig) zwischen peripheren Insulinspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.*

Wochen	Gesamt		Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^b = .444[*]$ $p = .050$	$r_s^b = .127$ $p = .593$	$r_s^c = .770**$ $p = .009$	$r_s^c = .474$ $p = .166$	$r_s^c = .249$ $p = .487$	$r_s^c = -.406$ $p = .244$
Woche 12	$r_s = .227$ $p = .310$	$r_s = .083$ $p = .714$	$r_s = .633*$ $p = .036$	$r_s = -.083$ $p = .808$	$r_s = -.076$ $p = .824$	$r_s = .341$ $p = .305$
Woche 16	$r_s = -.338$ $p = .124$	$r_s = .089$ $p = .692$	$r_s = -.166$ $p = .625$	$r_s = .471$ $p = .144$	$r_s = -.517$ $p = .103$	$r_s = -.425$ $p = .193$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

$p$ -Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

**Fazit:** Die Annahme bestätigte sich nicht, dass peripheres Insulin positiv mit den positiven und negativ mit den negativen Befindlichkeitsdimensionen korreliert ist. Bei Insulin behandelten Männern lagen in den negativen Befindlichkeitsdimensionen „Allgemeine Desaktivität“ und „Angst“ sogar positive Korrelationen zwischen Insulinspiegel und Befindlichkeit (Mittelwert Treatment) vor.

## Östradiol

Um eine Korrelation zwischen den verschiedenen Dimensionen der Befindlichkeit und den peripheren Östradiolspiegeln zu untersuchen, wurden Rangkorrelationen nach Spearman getrennt für die intranasal Insulin- und Placebo behandelten Männer und Frauen gebildet (per se unterschiedlich hohe Östradiolspiegel, daher direkt gesonderte Betrachtung nach Geschlecht). Die Berechnung der Werte erfolgte zur Deskription die  $p$ -Werte werden zweiseitig angegeben.

## Leistungsbezogene Aktivität

Bei den Insulin behandelten Männern lag nur in Woche 16 eine relevante positive Korrelation vor ( $r_s = .681$ ,  $p = .021$ ). Bei den Frauen zeigten sich keine relevanten Korrelationen (vgl. Tabelle 25). Beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten von Insulin-vs. Placebo behandelten

Probanden mittels  $Chi^2$ -Testung ergaben sich keine Vergleiche, die einen  $p$ -Wert  $< .05$  unterschritten. Sämtliche Werte wurden zur Deskription berechnet.

Tabelle 25: Männer/Frauen: „Leistungsbezogene Aktivität“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation,  $p$ -Werte zweiseitig) zwischen peripheren Östradiolspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^c = .511$ $p = .132$	$r_s = -.073$ $p = .832$	$r_s = .182$ $p = .593$	$r_s^c = .079$ $p = .828$
Woche 12	$r_s = -.089$ $p = .794$	$r_s = .061$ $p = .859$	$r_s = -.055$ $p = .872$	$r_s = -.483$ $p = .133$
Woche 16	$r_s = .681^*$ $p = .021$	$r_s = .043$ $p = .907$	$r_s = .173$ $p = .611$	$r_s = .249$ $p = .459$

Bemerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

$p$ -Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ ,  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$ .

### Allgemeine Desaktivität

Tabelle 26: Männer/Frauen: „Allgemeine Desaktivität“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation,  $p$ -Werte zweiseitig) zwischen peripheren Östradiolspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^c = -.394$ $p = .260$	$r_s = .236$ $p = .484$	$r_s = .082$ $p = .811$	$r_s^c = -.455$ $p = .187$
Woche 12	$r_s = .267$ $p = .427$	$r_s = .018$ $p = .957$	$r_s = -.470$ $p = .144$	$r_s = .120$ $p = .726$
Woche 16	$r_s = -.259$ $p = .443$	$r_s = .307$ $p = .358$	$r_s = .082$ $p = .810$	$r_s = .046$ $p = .894$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

$p$ -Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ ,  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$ .

Bei Männern und Frauen waren die zur Deskription berechneten Werte weder im Treatment noch im Follow-up relevant (vgl. Tabelle 26). Auch beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten von Insulin- und Placebo behandelten Pbn mittels  $Chi^2$ -Testung verfehlten sämtliche - zur Deskription berechnete - Vergleiche einen  $p$ -Wert  $< .05$ .

### Extra-/Introversion

Bei der Dimension „Extra-Introversion“ waren bei Männern und Frauen weder in den zusammengefassten Wochen des Treatments noch im Follow-up relevante Korrelationen zu beobachten (vgl. Tabelle 27). Auch sämtliche – zur Deskription berechnete – Vergleiche der Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebo behandelten Probanden erreichten ausschließlich  $p$ -Werte  $> .05$ .

Tabelle 27: Männer/Frauen: „Extra-/Introversion“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation,  $p$ -Werte zweiseitig) zwischen peripheren Östradiolspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^c = .456$ $p = .185$	$r_s = .227$ $p = .502$	$r_s = .041$ $p = .905$	$r_s^d = -.469$ $p = .203$
Woche 12	$r_s = -.096$ $p = .779$	$r_s = .306$ $p = .360$	$r_s = .424$ $p = .194$	$r_s = .144$ $p = .672$
Woche 16	$r_s = .369$ $p = .264$	$r_s = -.033$ $p = .923$	$r_s = .220$ $p = .516$	$r_s = -.225$ $p = .506$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

$p$ -Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ ,  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$ .

### Allgemeines Wohlbehagen

Auch für die Dimension „Allgemeines Wohlbehagen“ zeigten sich bei Männern und Frauen weder in den zusammengefassten Wochen des Treatments noch im Follow-up relevante Korrelationen (vgl. Tabelle 28). Auch sämtliche – zur Deskription berechnete – Vergleiche der Korrelationskoeffizienten der Insulin- vs. Placebo behandelten Probanden erreichten ausschließlich  $p$ -Werte  $> .05$ .

Tabelle 28: Männer/Frauen: „Allgemeines Wohlbehagen“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Östradiolspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^c = -.055$ $p = .881$	$r_s = -.300$ $p = .370$	$r_s = .064$ $p = .853$	$r_s^c = -.153$ $p = .672$
Woche 12	$r_s = -.501$ $p = .116$	$r_s = -.046$ $p = .894$	$r_s = .069$ $p = .840$	$r_s = -.376$ $p = .254$
Woche 16	$r_s = .353$ $p = .287$	$r_s = -.021$ $p = .952$	$r_s = .068$ $p = .842$	$r_s = -.491$ $p = .125$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ ,  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$ .

### Emotionale Gereiztheit

In der Dimension „Emotionale Gereiztheit“ zeigte sich lediglich bei den Insulin behandelten Männern im Follow-up in Woche 12 eine positive Korrelation zwischen peripherem Östradiol und den Werten der Befindlichkeitsdimension ( $r_s = .748$ ,  $p = .008$ , vgl. Tabelle 29). Bei den zur Deskription berechneten Intergruppenvergleichen ( $\chi^2$ -Testung) zeigte sich bei den Männern in Woche 12 ein deutlicher Unterschied (EG:  $r_s = .748^*$ , KG:  $r_s = -.060$ ,  $\chi^2$  [df = 1]: 4.56,  $p < .05$ ).

Tabelle 29: Männer/Frauen: „Emotionale Gereiztheit“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Östradiolspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^c = .224$ $p = .533$	$r_s = .009$ $p = .979$	$r_s = -.105$ $p = .759$	$r_s^d = .025$ $p = .949$
Woche 12	$r_s = .748^{**}$ $p = .008$	$r_s = -.060$ $p = .860$	$r_s = .087$ $p = .800$	$r_s = .155$ $p = .648$
Woche 16	$r_s = .301$ $p = .369$	$r_s = -.361$ $p = .275$	$r_s = .005$ $p = .989$	$r_s = .423$ $p = .194$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ ,  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$ .

### Angst

Bei den Männern lagen keine relevanten Korrelationen vor. Bei den Insulin behandelten Frauen zeigte sich in den zusammengefassten Wochen des Treatments eine deutliche

negative Korrelation zwischen peripherem Östradiol und Angst ( $r_s^c = -.778^{**}$ ,  $p = .008$ ). In den Follow-up Wochen konnte dies nicht mehr nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 30).

Beim Vergleich der Korrelationskoeffizienten mittels  $Chi^2$ -Testung zeigte sich nur bei den Frauen ein deutlicher Unterschied im Mittelwert des Treatments (EG:  $r_s = -.079$ , KG:  $r_s = .596$ ,  $Chi^2$  [d f= 1]: 4.15,  $p < .05$ ). Die Werte wurden zur Deskription berechnet.

Tabelle 30: Männer/Frauen: „Angst“: Korrelationskoeffizienten (Spearman'sche Rangkorrelation, p-Werte zweiseitig) zwischen peripheren Östradiolspiegel und Befindlichkeit der zusammengefassten Treatmentwochen sowie Follow-up Wochen 12 und 16.

Wochen	Männer		Frauen	
	Insulin	Placebo	Insulin	Placebo
Wochen 1-9	$r_s^c = -.079$ $p = .829$	$r_s^c = .596$ $p = .069$	$r_s^c = -.778^{**}$ $p = .008$	$r_s^c = -.030$ $p = .934$
Woche 12	$r_s = .407$ $p = .214$	$r_s = .102$ $p = .766$	$r_s = .167$ $p = .624$	$r_s = -.062$ $p = .856$
Woche 16	$r_s = -.079$ $p = .818$	$r_s = .401$ $p = .222$	$r_s = .043$ $p = .900$	$r_s = .419$ $p = .199$

Anmerkungen:  $r_s$  = Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman,

p-Werte (zweiseitig): [\*]:  $p < .10$ , \*  $p < .05$ , \*\* $p < .01$

Stichprobenumfang abweichend:  $r_s^a$ :  $n = 21$ ,  $r_s^b$ :  $n = 20$ , (von 22)  $r_s^c$ :  $n = 10$ ,  $r_s^d$ :  $n = 9$  (von 11).

**Fazit:** Lediglich in der Dimension „Leistungsbezogene Aktivität“ zeigt sich eine – wie erwartet – positive Korrelation in der Insulin behandelten Gruppe, allerdings ausschließlich bei männlichen Probanden und beschränkt auf die Follow-up Phase (Woche 16); in den übrigen positiven Befindlichkeitsdimensionen lagen keine relevanten Korrelationen vor. Negative Befindlichkeitsdimensionen: nur bei Insulin behandelten Frauen zeigte sich – wie erwartet- eine negative Korrelation zwischen peripherem Östradiol und „Angst“ in der Treatmentphase, die dabei einen sehr engen ( $r_s = -.778$ ,  $p = .008$ ) Zusammenhang beinhaltet. Entgegen der Erwartung lag in Woche 12 eine sehr hohe positive Korrelation ( $r_s = .748$ ,  $p = .008$ ) zwischen peripherem Östradiol und der „Emotionalen Gereiztheit“ bei Insulin behandelten Männern vor.

# 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die Effekte von längerfristig verabreichtem intranasalem Insulin vs. Placebo auch unter Berücksichtigung einer möglichen differentiellen Sensitivität bei Männern vs. Frauen für die Parameter Gedächtnis, BZ, periphere Hormone (Insulin und Östradiol) und Befindlichkeit untersucht. Hierfür wurden erstmalig (im Unterschied zu Benedict et al., 2004 und 2007; Hallschmid et al., 2008) ausschließlich freizyklierende Frauen untersucht und somit auf Pbn mit Zyklusregulierung durch hormonelle Kontrazeptiva verzichtet. In dem insgesamt 8-wöchigen Follow-up wurden die Stabilität der Effekte und auch mögliche Konditionierungseffekte nachverfolgt.

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zunächst getrennt für die Bereiche der erfassten Variablen und dann in der Zusammenschau diskutiert.

## 4.1 Gedächtnis

Verschiedene Studien konnten bisher einen positiven Einfluss von intranasalem Insulin auf die Gedächtnisleistung bei gesunden Menschen und auch bei Menschen mit MCI nachweisen (zf. Shemesh et al., 2012; zf. Spetter & Hallschmid, 2015).

Für den in der vorliegenden Arbeit eingesetzten Lern- und Gedächtnistest LGT-3 (Bäumler, 1974) besteht anhand der Faktorenstruktur eine Aufteilung in Untertests mit vorrangiger Erfassung des verbalen vs. figuralen Gedächtnisses. Entgegen der Erwartung war keine Verbesserung der Gedächtnisleistung in der Insulin vs. Placebo behandelten Gruppe zu verzeichnen. Auch bei gesonderter Betrachtung nach Geschlecht zeigte sich bei Männern und Frauen keine durchgängige Verbesserung der Gedächtnisleistung in der Insulin- gegenüber der Placebo behandelten Gruppe. Bei den Frauen war beim UT Stadtplan, der Inhalte des figuralen, hippocampusabhängigen Gedächtnisses (speziell räumliche Gedächtnisleitung) prüft, in der späten Treatmentphase (Woche 6) ein besseres Ergebnis der Insulin- vs. Placebogabe zu beobachten (durch die vorgenommene Adjustierung verfehlte der  $p$ -Wert jedoch auch die tendenzielle Signifikanz).

Bei Betrachtung der Gedächtnistests in den Follow-up Wochen (Firmenzeichen, VVM Stadtplan, beides Tests mit vorrangiger Erfassung des figuralen Gedächtnisses) zeigt sich ein interessanter Effekt: die Insulin behandelten Probandinnen erzielten im Follow-up tendenziell höhere Werte als die Placebo behandelten Teilnehmerinnen, dies war bei den Männern nicht zu

sehen (die Insulin behandelten Männer erzielten sogar ein deutlich schlechteres Ergebnis als die Placebo behandelten Männer).

In anderen Studien waren die Ergebnisse der intranasalen Insulingabe auf die Gedächtnisleistung durchgängiger nachzuweisen: sowohl nach einmaliger Insulingabe bei Gesunden (u.a. Kern et al., 2001; Krug et al., 2010; Brünner et al., 2015) als auch nach längerfristiger intranasaler Insulingabe (vs. Placebo) war eine Verbesserung der Gedächtnisleistung zu sehen (u.a. Benedict et al., 2004; Benedict et al., 2007; Hallschmid et al., 2008; siehe 1.5.2). Ein interessanter Aspekt bezüglich des zeitlichen Abstandes zwischen intranasaler Insulingabe (sowohl nach Gabe von Insulin an nur einem Versuchstag als auch längerfristiger Insulingabe) und Gedächtnisprüfung zeichnete sich in einigen Studien ab: Die Gedächtnisleistung war bei *verzögertem Abruf* der Gedächtnisinhalte (also einem längeren zeitlichen Abstand zwischen Lernen und Abruf) deutlicher, als bei *unmittelbarer* Überprüfung der Gedächtnisinhalte nach Applikation von Insulin (Benedict et al., 2004: 7-tägige Zeitversetzung; Benedict et al., 2007: 7-tägige Zeitversetzung nach Ende der 8-wöchigen Treatmentphase; Hallschmid et al., 2008: 7-tägige Zeitversetzung). Diese Ergebnisse passen zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, in der bei Insulin behandelten Frauen eine verbesserte Gedächtnisleistung nach der 8-wöchigen Treatmentphase erst im Follow-up (Gedächtnisprüfung in den Wochen 12 und 16) deutlich wurde. Eine mögliche Erklärung hierfür sind insulinvermittelte Gedächtniskonsolidierungsprozesse, die wahrscheinlich einen längeren Zeitraum (24 Stunden oder mehr) beanspruchen. Obwohl schon viele Mechanismen der Wirkung von zentralem Insulin auf neurobiologischer Ebene bekannt sind, sind nicht alle Abläufe zu insulinvermittelten Effekten auf Gedächtnis und kognitive Fähigkeiten erforscht. Bisher bekannt ist, dass durch die Bindung von Insulin an zentrale IR unter anderem präsynaptisch die Freisetzung/Aufnahme von Katecholaminen (Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin) erfolgt (u.a. für die Enkodierung von Gedächtnisinhalten verantwortlich; vgl. Frey & Morris 1998; Lisman & Grace 2005; zf. Nguyen et al., 2018). Außerdem agiert Insulin v.a. an Glutamatrezeptoren wie NMDA [N-Methyl-D-Aspartat] und AMPA [engl.:  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor]), die nachweislich mit Gedächtnisprozessen assoziiert sind. V.a. die Internalisierung von AMPA Rezeptoren und die Phosphorylierung und der Transport von NMDA-Rezeptoren an die Zelloberfläche beeinflusst die synaptische Plastizität positiv. Auch auf die Energieverfügbarkeit und -nutzung hat zentrales Insulin – durch die verbesserte Aufnahme von zentral verfügbarer Glukose über GLUT 4 (Glukosetransporter) und durch den Anstieg von ATP (Adenosintriphosphat, Energieträger und wichtiger Regulator energieliefernder Prozesse) – Einfluss, v.a. über zusätzliche Energieverfügbarkeit an Stellen, die in diesem Fall für Gedächtnisprozesse wichtig sind (Astrozyten, Gliazellen, Oligodendrozyten; zf. Hallschmid, 2021). Als relevanteste Signalkaskaden der zentralen Insulinwirkung werden der MAPK- oder ERK-Signalweg (MAPK: engl.: mitogen-

activatedproteinkinase, ERK: engl.: extracellular signal-regulated kinase) genannt, sowie die Aktivierung des IRS/PI3-Kinase-Signalwegs (IRS: engl.: insulinreceptorsubstrates, PI3: Phosphoinositid-3-Kinase). Dieser ist auch sehr wichtig bei der Regulation von Nahrungsaufnahme und über den Einfluss auf Dopamin-Rezeptoren auch bei der Beeinflussung von Befindlichkeit. Die o.g. Mechanismen über die synaptische Plastizität und über Prozesse der Langzeitpotenzierung (LTP) und -depression (LTD) die Konsolidierung von Gedächtnisprozessen (Zhao et al., 2004, Reger et al., 2006, zf. Spinelli, Fusco, & Grassi, 2019). Auch ist bekannt, dass zentrales Insulin das Langzeitgedächtnis über Gentranskription und neue Proteinsynthese über IR-mRNA (engl.: messenger ribonucleid acids) beeinflusst (Zaho & Alkon, 2001). Dies ist passend zu den referierten Befunden bei Gesunden, die zeigen konnten, dass insulinvermittelte Gedächtniseffekte im verzögerten, zeitversetzten Abruf – und damit nach Konsolidierung der gelernten Inhalte – deutlicher sind als im unmittelbaren Abruf. Warum in der vorliegenden Arbeit nur Frauen und nicht Männer nach Insulingabe in den Follow-up Testungen profitierten, kann aus den erhobenen Daten nicht kausal geklärt werden. Allerdings konnte in anderen Studien bereits eine differentielle Sensitivität bei Männern und Frauen auf die Gedächtnisleistung nach intranasaler Insulingabe beobachtet werden, im Bereich der Nahrungsaufnahme liegen hierzu sogar noch mehr Daten vor (zf. Hallschmid 2021). Möglich scheint also, dass die neurokognitiven Effekte zentralen Insulins bei Männern und Frauen unterschiedlich beeinflusst werden, eine Interaktion mit Sexualhormonen scheint hierfür wahrscheinlich. Da sich die unterschiedliche Sensitivität erst im Follow-up so deutlich darstellte sollte auch bei Folgeuntersuchungen eine lange Nachbeobachtungszeit eingeplant werden. Limitierend muss angemerkt werden, dass beide Gedächtnistests in den Follow-up Wochen mit Gewichtung auf dem figuralen Gedächtnis lagen. Für Folgestudien wäre es von Interesse zu prüfen, ob sich diese Effekte bei verbal gewichteten Tests reproduzieren ließen.

Obwohl die Ergebnisse in unserer Untersuchung die Hypothese einer verbesserten Gedächtnisleistung nach Insulingabe inferenzstatistisch nicht bestätigten, wäre für Folgestudien interessant, die sich andeutende unterschiedliche Sensitivität für die Effekte zentralnervös wirksamen Insulins bei Männern und Frauen in unterschiedlichen Gedächtnisbereichen genauer zu untersuchen. In der vorliegenden Studie zeigten nur (im Treatment) Insulin behandelte Frauen (nicht Männer) eine Gedächtnisverbesserung der *figuralen* Gedächtnistests im Follow-up (Summenwert der Follow-up Leistungen). Unterschiede zwischen Männern und Frauen zeichneten sich auch unter Bedingungen einer akuten (ein Versuchstag) Insulingabe in einer Studie von Benedict et al. (2008) ab: nur Frauen (hier unter hormoneller Kontrazeption) erzielten nach einmaliger intranasaler Insulingabe bessere Ergebnisse in einer 2-dimensionalen Lokisationsaufgabe (verdeckte Kartenpaare) und in der Testung des Arbeitsgedächtnisses (anhand des sog. *digit span test*, Wiedergabe von Zahlen in richtiger und umgekehrter Reihenfolge).

Dieser Unterschied war bei Männern nicht zu sehen. In einer hippocampusunabhängigen Testung hatte Insulin (vs. Placebo) weder bei Männern noch Frauen einen gedächtnisfördernden Effekt. In der Akutstudie, die im Rahmen des DFG-Projektes (DFG STO 323/1-2) der hier vorliegenden Längsschnittuntersuchung vorausgegangen war, konnte Blicke (2009) ebenfalls zeigen, dass nach akuter Gabe von Insulin (insgesamt sechsmal 20 IE Insulin im Abstand von je 15 Minuten) die Gedächtnisleistung nur bei Prüfung der Aufgabe des figuralen (räumlichen) Gedächtnisses (UT Stadtplan) bei Insulin behandelten Frauen eine Verbesserung verglichen mit Placebo vorwies. Dieser Unterschied war bei Männern nicht nachweisbar und konnte auch bei einer Aufgabe zum verbalen Gedächtnis (UT Bau) weder bei Männern noch Frauen festgestellt werden. In der hier berichteten vorliegenden Längsschnittphase wurde explizit darauf geachtet, verschiedene Bereiche des deklarativen Gedächtnisses über insgesamt 5 verschiedene Untertests des LGT-3 zu prüfen (3 Untertests mit vorrangiger Ladung auf dem Faktor verbales Gedächtnis, 2 Untertests auf dem Faktor figurales Gedächtnis). Ein alternatives Vorgehen für folgende Erhebungen wäre der Vergleich nur je eines Untertests jeder Kategorie (verbal, figural) und die Verwendung einer größeren Zahl von Parallelformen (z.B. Stadtplan), welche aber aus publizierten Verfahren für die hier notwendige Zahl von Messzeitpunkten nicht verfügbar waren. Alternativ könnten selbstentwickelte figurale (z.B. Stadtpläne) und verbale Tests (z.B. Wortlisten) verwendet werden. Idealerweise sollte in Zukunft zu jedem Testzeitpunkt je ein Test zur Prüfung des verbalen und des figural räumlichen Gedächtnisses verwendet werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde bei Langzeitgabe von intranasalem Insulin (täglich dreimal 20 IE über 8 Wochen) und wöchentlicher Gedächtnistestung im Labor nicht nur die Langzeiteffekte der kumulierten Insulindosis geprüft, sondern in der Hälfte der Laborsitzungen der Effekt *akuter zusätzlicher* Insulineffekte erfasst: die Substanzapplikation im Labor erfolgte zu zwei unterschiedlichen Zeitpunkten während der Laborsitzungen: entweder unmittelbar vor der Gedächtnisprüfung (und damit Abruf im Zustand der zusätzlichen akuten Insulinwirkung, „ungerade“ Wochen) oder Sprühen erst nach der Gedächtnisprüfung (und damit beim Abruf der ausschließlich kumulierten Wirkung der langfristigen Insulingabe der vorangehenden Wochen). Bei Betrachtung der Gesamtgruppe und auch bei getrennter Betrachtung von Männern und Frauen zeigten sich unter beiden Bedingungen keine relevanten Unterschiede zwischen Insulin- und Placebo behandelten Pbn. Dies spricht dafür, dass eine zusätzliche akute Substanzapplikation während der Laborsitzung die Langzeiteffekte intranasalen Insulins nicht modifiziert.

*Korrelation zwischen Gedächtnisleistung und peripheren Hormonspiegeln (Insulin und Östradiol)*

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig die Korrelation von peripherem Insulin und auch peripherem Östradiol mit der Gedächtnisleistung bei intranasal Insulin- vs. Placebo behandelten Pbn berechnet. Sowohl in Insulin behandelter Gesamtgruppe als auch bei getrennter Betrachtung nach Geschlecht lagen keine einheitlich positiven Korrelationen zwischen peripherem Insulin und Gedächtnisleistung vor. Allerdings bestätigte sich die Annahme einer positiven Korrelation bei einzelnen Messzeitpunkten: In der *Gesamtgruppe* der Insulin behandelten Pbn einmalig am Ende des Treatments (hier auch relevanter Intergruppenunterschied Insulin vs. Placebo) und am Ende des Follow-ups (UT Telefon, verbales Gedächtnis, UT VVM Stadtplan, figurales Gedächtnis). Bei Insulin behandelten Männern in zwei Wochen am Ende des Treatments (UT Firmenzeichen, figural; UT Telefon, verbal), bei Insulin behandelten *Frauen* in zwei Wochen an Beginn und Ende des Treatments (je UT Telefon, verbales Gedächtnis).

Da auch für zentrales *Östradiol* gedächtnisfördernde Effekte bekannt sind (zf. Gasbarri et al., 2012) wurde in der vorliegenden Arbeit - als explorative Zusatzanalyse - auch untersucht, ob die Höhe des peripheren Östradiolspiegels mit der Gedächtnisleistung bei Insulin- und Placebo behandelten Männern und Frauen korreliert. Hier zeigte sich bei den Insulin behandelten *Männern* keine positive Korrelation zwischen Gedächtnis und peripherem Östradiolspiegel. Bei den *Placebo behandelten* Männern lagen überwiegend positive Korrelationen vor, die bei den figuralen Testungen relevant waren (UT Stadtplan Wochen 1 und 6 [hier auch relevante Intergruppenunterschiede], UT Firmenzeichen Woche 5 und 12). Bei den *Frauen* waren bei den Insulin behandelten und Placebo behandelten Pbn keine einheitlichen Korrelationen zu sehen.

Limitierend zu den Korrelationen muss angemerkt werden, dass ausschließlich *peripheres Insulin* beziehungsweise *Östradiol* mit der jeweils erzielten Gedächtnisleistung korreliert wurde. Zielführender um die Auswirkung zentraler Prozesse zu beurteilen, wäre, die Konzentration von Hormonen (hier: Insulin/Östradiol) in der CSF, gerade weil für die intranasale Gabe von Insulin ein rascher Anstieg der Insulinkonzentration in der CSF nachgewiesen wurde (Born et al., 2002). Und auch bildgebend (fMRT und MEG) wurde nachgewiesen, dass die intranasale Insulingabe bereits 30 Minuten nach Gabe Auswirkungen (im Sinne einer Steigerung der ZNS-Aktivität) im ZNS hat (Kullmann et al. 2013, 2018). Dass die periphere Hormonkonzentration nicht zwangsläufig mit den Spiegeln in der CSF korreliert ist, zeigte jüngst eine Untersuchung von Martin et al. (2019): die peripheren Spiegel (im Plasma gemessen) der Hormone Östradiol, Progesteron und Testosteron entsprachen in der Untersuchung nicht den zentralen Spiegeln (in der CSF gemessen), wobei sich diese Studie nur auf männliche Pbn bezieht. Aufgrund der Invasivität der Messung zentraler Hormonspiegel wurde in der vorliegenden Arbeit allerdings auf die Messung in der CSF verzichtet.

*Zusammenfassend:* Während die erhobenen Daten nicht bestätigen, dass Insulin die Gedächtnisleistung generell, d.h. unabhängig von möglichen Moderatorvariablen, verbessert, zeichnet sich ab, dass differentielle Aspekte von Bedeutung sind. Bei getrennter Betrachtung nach Geschlecht und auch bei getrennter Betrachtung unterschiedlicher Gedächtnisbereiche (figural vs. verbal) gibt es Hinweise darauf, dass Frauen von den gedächtnisfördernden Effekten von Insulin besonders in figuralen Tests profitierten. Die Verbesserung der intranasal Insulin- vs. Placebo behandelten Frauen bei den Gedächtnistests erst im Follow-up ist passend zu einer Verbesserung durch mögliche zentralnervös kumulierte Insulineffekte im zeitlichen Verlauf bzw. nach einer längeren (achtwöchigen) Einwirkung von Insulin.

Wenngleich sich bei den korrelativen Zusatzuntersuchung kein einheitliches Muster ergab zeichnete sich doch ab, dass bei Insulin behandelten Pbn in einzelnen Wochen positive Korrelationen zwischen peripherem Insulin und Gedächtnis vorlagen, bei den Frauen überwiegend in verbal gewichteten UTs. Bei den Korrelationen zwischen peripherem Östradiol und Gedächtnisleistung profitierten die Insulin behandelten Pbn nicht.

#### *Forschungsperspektiven*

Da ein besonderer Fokus dieser Arbeit auf der Betrachtung möglicher Unterschiede zwischen Männern und Frauen bei zentralen Insulineffekten gelegt wurde, wurde explizit darauf geachtet, dass die teilnehmenden Frauen freizyklierend und ohne hormonelle Kontrazeptiva waren. Dies bietet den Vorteil – auch für Folgeuntersuchungen – Schwankungen der insulinmodifizierenden Effekte über den Menstruationszyklus - und somit v.a. unterschiedlich hoher peripherer Östradiol- und Progesteronkonzentration - zu beobachten. So wäre die Erhebung in unterschiedlichen Zyklusständen (z.B. prä- vs. postovulatorische Zyklusphase, orientierend am *individuellen* Zyklusprotokoll der Teilnehmerinnen) in Folgestudien interessant.

Die bisher bekannten Daten zur Gedächtnisbeeinflussung durch intranasales Insulin haben für den Bereich der Demenzforschung Potenzial: Um in Zukunft einen Weg zu finden, dass Patienten mit MCI oder diagnostizierter Demenz von den gedächtnisfördernden Effekten von Insulin profitieren können, ist auf diesem Feld weitere Forschung nötig. Ziel ist es, den Krankheitsverlauf einer AD, insbesondere Gedächtnisverlust und dem Verlust von Alltagsfertigkeiten, mit rechtzeitiger Insulingabe positiv zu beeinflussen. Hierfür bietet die Untersuchung an gesunden Pbn eine wichtige Grundlage.

## 4.2 Blutzucker und periphere Hormone (Insulin/Östradiol)

Lundqvist et al. (2019) verweisen in einer großen Übersichtsarbeit darauf, dass mittlerweile viele Studien belegen, dass auch das ZNS eine Schlüsselrolle in der Glukoregulation und Energiehomöostase einnimmt. Unter diesen Aspekten war in der vorliegenden Arbeit von Interesse, ob intranasal verabreichtes – und damit zentral wirksames Insulin - Effekte auf BZ und periphere Hormone, insbesondere den peripheren Insulinspiegel hat.

Unter der Hypothese, dass intranasales Insulin den BZ innerhalb des euglykämischen Bereichs senkt, wurde der BZ während der Treatment- und der Follow-up Phase am Ende der Laboruntersuchungen (Minute 41) in einer Blutprobe gemessen. Der Gesamtmittelwert der Blutzuckerdifferenzen zu Woche 1 (gemittelt über die Wochen der Treatmentphase) wurde inferenzstatistisch auf Intergruppenunterschiede überprüft, es wurden aber keine Gruppenunterschiede beobachtet.

Entgegen der Erwartung konnten auch im peripheren Insulinspiegel weder bei der Gesamtgruppe, noch bei getrennter Betrachtung nach Geschlecht, Unterschiede zwischen intranasal verabreichtem Insulin und Placebo gemessen werden. Der erwartete Anstieg von peripherem Insulin nach intranasaler Insulinapplikation blieb damit aus.

In verschiedenen Tierversuchen mit Hunden (Chen et al., 1975; Chowers et al., 1966), Hühnern (Anderson & Hazelwood, 1969) und Ratten (Obici, Feng, Karkanias, Baskin & Rossetti, 2002) konnte bei zentraler Insulingabe ein Abfall des peripheren BZ nachgewiesen werden (basierend auf einer vagal vermittelten peripheren Insulinfreisetzung mit Absenkung des BZ). Im Humanbereich konnte in einzelnen Studien auch gezeigt werden, dass intranasal verabreichtes Insulin – unter Beibehaltung der Euglykämie– zu einer Abnahme des BZ bei Gesunden führte (Krug et al., 2010). Passend dazu sind die Ergebnisse von Stockhorst et al. (2011a) aus der Konditionierungsstudie mit intranasalem Insulin: Hier kam es sowohl unconditioniert (d.h. während der intranasalen Applikation von Insulin) als auch konditioniert (am Folgetag unter Placebobedingungen) bei gesunden Männern zum Anstieg des peripheren Insulinspiegels (im Vergleich zu einer Versuchsgruppe mit Placebogabe an beiden Tagen). Auch Ott et al. (2015) konnten in einer Studie mit gesunden, normalgewichtigen Männern einen Abfall des peripheren BZ nach intranasaler Gabe von Insulin Aspart (einem schnell wirksamen Insulin Analogon) zeigen, der Effekt war hier dosisabhängig (deutlicher bei höherer Dosierung, insgesamt 210 IE vs. 240 IE als 10 IE bzw. 20 IE alle 15 Minuten).

Die bisherigen Studienergebnisse zu BZ und peripherem Insulin nach intranasaler Insulingabe bei Menschen sind in den Ergebnissen allerdings nicht einheitlich: wie in den vorliegenden Längsschnittdaten konnten auch Kern et al. (1999), Hallschmid et al. (2004) und Kullmann et al. (2018) keine Veränderung des peripheren BZ sogar nach mehrfacher akuter intranasaler Insulingabe beobachten. Die vorliegenden Längsschnittbefunde belegen, dass sich durch langfristig, mehrfach täglich verabreichtes Insulin bei stoffwechselgesunden Probanden keine Veränderungen von peripheren Stoffwechselfparametern einstellen.

Aspekte, die auch in Folgestudien von Interesse sein werden, sind mögliche dosisabhängige Beeinflussungen wie bei dem schnell wirksamen Insulin Aspart (vgl. Ott et al., 2015): hier führte die hochdosierte Gabe von 420 IE intranasalem Insulin Analogon deutlicher zum Abfall des BZs und Anstieg peripheren Insulins als die niedrigere Dosierung. Beide Dosierungen sind deutlich höher als die in der vorliegenden Studie verabreichten Dosen von Insulin (mit 3x 20 IE täglich). Kullmann et al. (2018) fanden nach einmaliger intranasaler Insulingabe (40 IE vs. 80 IE vs. 160 IE Insulin vs. Placebo) ebenfalls einen dosisabhängigen Anstieg von peripherem Insulin. Hier zeigte sich außerdem eine interessante *zeitliche Dynamik*: Die höchsten Werte konnten 15 Minuten nach Gabe gemessen werden, nach 30 Minuten waren die Werte wieder auf das Niveau vor Applikation abgefallen. Auch in der (dieser Längsschnittuntersuchung vorausgehenden) Akutstudie von Blicke (2009) zeigte sich ein zeitlicher Zusammenhang: die Insulin behandelten Pbn zeigten – im euglykämischen Wertebereich – eine stärkere BZ-Abnahme verglichen mit den Placebo behandelten Pbn (ebenfalls als Differenzen zur Baseline) und einen signifikanten Anstieg des peripheren Insulins. Signifikante Gruppenunterschiede ergaben sich erst 30 Minuten nach der ersten Gabe und blieben bestehen (insgesamt sechsmal intranasales Insulin in einer Dosis von 20 IE). Für Folgestudien zur intranasalen Langzeitinsulingabe kann überlegt werden, ob mehrfach – in unterschiedlichen zeitlichen Abständen während Laborsitzungen (z.B. alle 10 Minuten nach Substanzgabe) – peripheres Insulin und BZ gemessen werden. Das würde zeitliche Dynamiken besser erfassen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen aber auch, dass die langfristige Gabe von intranasalem Insulin bei Menschen als stoffwechselsicher eingestuft werden kann, da keine relevanten Hyper- oder Hypoglykämien beobachtet werden. Zukünftig kann überlegt werden, ob die Verwendung von Insulin Analoga (z.B. Insulin Aspart) deutlichere Effekte auf periphere Hormonwerte bringt. Auch bietet die Gabe von Insulin Analoga den Vorteil, dass bei peripherem Insulin eine bessere Differenzierung zwischen endogen produziertem Insulin vs. Insulin Analogon (durch Aufnahme über die Nasenschleimhaut während der Applikation) gemacht werden könnte.

## Östradiol

Bislang sind aus dem Tier- und Humanbereich keine Studien vorliegend, die Einflüsse von längerfristig appliziertem intranasalem Insulin auf die peripheren *Östradiolspiegel* bei Männern und freizyklierenden Frauen untersuchten. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob intranasales Insulin vs. Placebo die peripheren Östradiolspiegel bei Männern und freizyklierenden Frauen beeinflusst.

Bei den *Männern* lag der Mittelwert der aufsummierten Östradioldifferenzen für die Insulin behandelten Pbn im positiven, für die Placebo behandelten Pbn im negativen Bereich, verfehlte allerdings das Signifikanzniveau. Bei Betrachtung der einzelnen Testzeitpunkte (deskriptiv) zeigten sich überwiegend höhere Östradioldifferenzen (im positiven Bereich) bei den Insulin behandelten Pbn, mit in zwei Messungen der zweiten Hälfte des Treatments (Wochen 4 und 7) angedeuteten Unterschieden ( $p$ -Werte zweiseitig  $< .10$ ). Bei den *Frauen* konnten keine relevanten Unterschiede zwischen Insulin- und Placebo behandelten Pbn gefunden werden.

Wenngleich sich bei der inferenzstatistischen Überprüfung der Gesamtmittelwerte der Östradioldifferenzen bei intranasal Insulin- vs. Placebo behandelten Pbn keine relevanten Unterschiede ergaben, ist für Folgestudien sicher weiterhin von großem Forschungsinteresse, mögliche Veränderung der peripheren Sexualhormonspiegel zu erheben. Vor allem, da sich bei Betrachtung der peripheren Östradiolspiegel im Verlauf eine differentielle geschlechtsspezifische Sensitivität für die Effekte intranasalen Insulins vs. Placebo andeutet: nach intranasaler Insulingabe stieg nur bei Männern (bei zwei Erhebungszeitpunkten) der Östradiolspiegel an, solche Effekte waren bei Frauen nicht zu sehen. Peripheres Östradiol wird bei Männern größtenteils durch Aromatisierung von Testosteron gebildet, zum kleineren Teil wird es in den Leydigzellen des Hodens gebildet. Bei Frauen wird Östradiol überwiegend in den Granulosazellen der Ovarien gebildet. Geschlechtsunabhängig erfolgt ein kleinerer Teil der Östradiolsynthese in der Nebennierenrinde. Der Anstieg peripheren Östradiols nach Insulingabe nur bei Männern wäre entweder dadurch zu erklären, dass Insulin in der *Peripherie* die Aromatisierung von Testosteron zu Östradiol beeinflusst. Plausibler wäre allerdings, dass intranasales Insulin *zentral* die Hypophysen-Hypothalamus-Gonaden-Achse beeinflusst (z.B. die zirkadiane Ausschüttung von GnRH im Hypothalamus, die Ausschüttung von LH [und FSH bei Frauen] in der Hypophyse, beides kann einen Anstieg von Testosteron und sekundär Östradiol bewirken). Somit bietet sich für Folgestudien an, dass bei Messung der Sexualhormone auch Testosteron mit erhoben werden sollte.

## 4.3 Befindlichkeit

Die Befindlichkeit wird nachfolgend erst für die positiven, dann für die negativen Befindlichkeitsfaktoren (vgl. EWL) besprochen: *bei den positiven Befindlichkeitsfaktoren* waren bei der „Leistungsbezogenen Aktivität“ ab Ende des Treatments (Woche 6 bis 9) und deutlicher im Follow-up höhere Werte der intranasal Insulin behandelten Pbn (Gesamtgruppe und Frauen) gegenüber der Placebo behandelten Pbn zu sehen, bei Frauen zeichnete sich dies noch deutlicher im Follow-up ab. Bei der „Extraversion/Introversion“ wurden Insulineffekte in der Treatmentphase nicht deutlich, Im Follow-up (Woche 12) zeigten die Insulin behandelten Pbn einen höheren Wert als die Placebo behandelten Pbn (auf die männlichen Teilnehmer zurückzuführen). Beim „Allgemeinen Wohlbehagen“ zeichneten sich im Verlauf – Ende des Treatments (Wochen 6-9) und deutlicher im Follow-up - höhere Werte der Insulin behandelten Pbn gegenüber der Placebo behandelten Pbn ab. Bei den Frauen war das Ergebnis besonders eindrücklich - mit einem signifikant höheren Gesamtmittelwert der EG in der Treatmentphase und einem deutlich besseren Wert in Woche 12 (bei den Männern ergaben sich keine relevanten Unterschiede).

*Zusammenfassend* zeigte sich also – wie erwartet - in *den positiven Befindlichkeitsdimensionen* bei den Dimensionen „Leistungsbezogene Aktivität“ und „Allgemeines Wohlbehagen“ höhere Werte der Insulin behandelten Pbn gegenüber der Placebogruppe. Interessant hierbei ist, dass diese Effekte größtenteils in der zweiten Hälfte des Treatments – nach bereits erfolgten 5 Wochen Applikation (ab Woche 6-9) – deutlich wurden. Bei den *negativen Befindlichkeitsfaktoren* wurden in der Gesamtgruppe einheitlich – allerdings statistisch nicht signifikant – niedrigere Werte bei den Insulin behandelten Pbn beobachtet. Bei getrennter Betrachtung nach Geschlecht ergaben sich keine Unterschiede zwischen Insulin- vs. Placebo behandelten Pbn.

Aus dem Tierbereich liegen einige Studien vor, die eine Beeinflussung von Insulin auf emotionale und motivationale Prozesse bestätigen (zf. Sánchez-Lasheras, Könner & Brüning, 2009): zum einen zeigt die Gabe von zentral verfügbarem Insulin positive Effekte auf emotionale Prozesse (u.a. Marks et al., 2009). Zum anderen wird aus verschiedenen tierexperimentellen Versuchsanordnungen deutlich, dass die Inaktivierung zentraler IR zu negativen Veränderungen in emotionalen und motivationalen Prozessen (erhöhtes ängstliches und depressionsähnliches Verhalten) bei Tieren führt (Grillo et al., 2011; Cai et al., 2018; vgl. auch 1.7.1). Außerdem gibt es weitere Hinweise, für die neuroprotektive Wirkung zentralen Insulins: experimentell induzierte angstfördernde und neuroinflammatorische Effekte (hier durch wiederholte

Gabe von Metamphetamin an Ratten) konnten durch die intranasale Gabe von Insulin abgemildert werden (Beirami, Oryan, Seyedhosseini, Tamijani, Ahmadiani & Dargahi, 2017).

Die Daten bei gesunden Menschen sind überschaubar, aber vielversprechend. Die intranasale Insulingabe hatte positiven Einfluss auf einzelne Indikatoren der Befindlichkeit, sowohl nach akuter als auch nach längerfristiger Gabe (u.a. Kern et al., 1999; Benedict et al., 2004; Hall-schmid et al., 2008; vgl. auch 1.7.2). In der Untersuchung akuter Insulineffekte, die der hier dargestellten Längsschnittuntersuchung vorausgegangen war (Blicke, 2009), zeigten sich nach Gabe von insgesamt sechsmal 20 IE Insulin (im Abstand von je 15 Minuten) Muster besserer Befindlichkeitswerte, also höhere Werte in den positiven Befindlichkeitsdimensionen (v.a. „Allgemeines Wohlbehagen“) und niedrigere Werte in den negativen Dimensionen (v.a. „Allgemeine Desaktivität“) bei Insulin behandelten Pbn, dabei ging der Unterschied in den positiven Dimensionen hauptsächlich auf die Frauen zurück, der in den negativen Dimensionen auf die Männer.

In der vorliegenden Arbeit wurde die gemessene Befindlichkeitsverbesserung erst im Verlauf (nach längerer Insulingabe und im Follow-up) deutlich. Auch aus dem Bereich der antidepressiven Medikation ist bekannt, dass die antidepressive und somit befindlichkeitsfördernde Wirkung gängiger pharmakologischer Therapie (v.a. von MAO-Hemmern, die den Abbau von Neurotransmittern wie Serotonin, Noradrenalin und Dopamin verlangsamen und damit deren Verfügbarkeit im ZNS erhöhen) überwiegend zeitverzögert nach einigen Wochen eintritt (zf. Machado-Vieira et al., 2010; Machado-Vieira, Henter & Zarate, 2017). In einer bereits beschriebenen Arbeit von Kleinridders et al. (2015) führte die experimentelle Downregulierung von hypothalamischen IR durch das Lentivirus zu Depressions-ähnlichem und ängstlichen Verhalten bei Ratten: Auf molekularer Ebene wiesen die Versuchstiere eine erhöhte Konzentration von MAO und eine Beeinflussung des Dopamin-Stoffwechsel im mesolimbischen System auf (Rückgang von Dopaminaktivität in Striatum und Nucleus accumbens). Durch medikamentöse Hemmung der MAO (MAO-Hemmer und trizyklisches Antidepressivum Imipramin), konnten die depressiven Symptome der Versuchstiere rückgängig gemacht werden. Die Interaktion von zentralem Insulin mit Katecholaminen, die Befindlichkeit modifizieren und das Vorkommen von MAO scheinen eine mögliche Erklärung für zentral vermittelte Insulineffekte auf neurobiologischer Ebene zu sein und sind auch passend zum Wirkeintritt nach einigen Wochen.

Im Zusammenspiel verschiedener Effekte zentralen Insulins scheint besonders das dopaminerge System eine Schlüsselrolle einzunehmen: Ein Mangel an Dopamin führt zu charakteristischen depressiven Symptomen (Anhedonie, psychomotorische Störungen, Fatigue), die icv Gabe von Insulin wiederum steigert die Expression und Aktivität von Dopamintransportern. IR kommen an dopaminergen Neuronen im ventralen tegmental Areal (Teil des

Belohnungssystem) vor und auch metabolische Prozesse (Energiehomöostase und [belohnungsassoziiertes] Essverhalten) werden über das dopaminerge System beeinflusst (zf. Nguyen et al., 2018). Passend hierzu liegt eine Studie vor, die zeigen konnte, dass die postprandiale Gabe von 160 IE intranasalem Insulin bei gesunden Frauen (verglichen mit Insulingabe bei einer nüchternen Gruppe) den Verzehr von besonders schmackhaften Snacks reduzierte. Insulin fungierte hier somit wahrscheinlich als Sättigungssignal und beeinflusste vor allem das *belohnungs-assoziierte* Essverhalten im Sinne einer Reduktion des Verzehrs der schmackhaften Snacks (Hallschmid et al., 2012). Die beschriebenen Effekte von intranasalem Insulin auf die Befindlichkeit in der vorliegenden Längsschnittstudie lassen sich durchaus mit der Funktionalität zentral wirksamen Insulins in Bezug auf das Belohnungssystem in Zusammenhang bringen: tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass Insulin (sowie Leptin) eine wesentliche Rolle bei Belohnungsprozessen einnimmt, z. B. bei der Motivation für eine Belohnung in Form von Nahrung zu arbeiten (Sánchez-Lasheras et al., 2009). Auch konnte gezeigt werden, dass die zentrale Verabreichung von IGF-I zu Antidepressiva-ähnlichen Effekten führte (zf. Duman et al., 2009; Hoshaw, Malberg & Lucki, 2005).

#### *Klassische Konditionierung*

Die Versuchsanordnung eignete sich auch gut, um die explorative Frage zu klären, ob in dieser Studie klassisch konditionierbare Insulineffekte nachweisbar sind. Es erfolgte deshalb für die Befindlichkeitsmaße zusätzlich eine Gegenüberstellung von Subgruppen anhand der Substanzapplikations- Bedingungen in den Follow-up Wochen 12 und 16, um zu untersuchen, ob die unter Insulin entstandenen Effekte erhalten bleiben, wenn nach dem Treatment noch ein Placebo verabreicht wird. In Hinblick auf Mechanismen der klassischen Konditionierung wurde erwartet, dass in der Versuchsgruppe, die zunächst Insulin erhalten hat, die Umgebungsreize (wie etwa Merkmale der Sprühroutine und besonders der Geruch von meta-cresol) zu konditionierten Stimuli geworden sind und auch unter Placebo Verabreichung insulinähnliche Effekte hervorrufen (im Unterschied zu den im Treatment Placebo behandelten Pbn, die auch im Follow-up weiterhin die Placebolösung erhalten).

In allen drei positiven Befindlichkeitsdimensionen in der Insulin- vs. Placebo behandelten Gruppe (je Placebo im Follow-up) waren die Werte der Gesamtgruppe im Follow-up (Woche 12) bei den Insulin behandelten Pbn besser. Bei den Frauen war dies sogar für beide Follow-up Erhebungen (Wochen 12 und 16) in zwei von drei positiven Befindlichkeitsdimensionen („Leistungsbezogene Aktivität“ und „Allgemeines Wohlbefinden“) zu sehen. Diese Ergebnisse stützen die Hypothese: an der Aufrechterhaltung der Befindlichkeitsverbesserung der im Treatment Insulin behandelten Pbn sind konditionierte Insulineffekte beteiligt (Insulin als US im

Treatment, Placebo-Nasenspray mit charakteristischem Geruch als CS im Follow-up). Dies ging vor allem auf die teilnehmenden Frauen zurück.

Negative Befindlichkeitsdimensionen: Bei den Männern, die im Follow-up Placebo sprühten zeigte sich in Woche 12 in den Dimensionen „*Emotionale Gereiztheit*“ und „*Angst*“ niedrigere Werte für die im Treatment Insulin behandelten Pbn verglichen mit Placebo, was als klassisch konditionierter Effekt einer geringeren Gereiztheit bzw. Angst nach Insulingabe gesehen werden kann, kongruent mit Konditionierungseffekten. Die übrigen Berechnungen zu Konditionierungseffekten ergaben kein einheitliches Muster.

#### *Korrelation zwischen Befindlichkeit und peripheren Hormonspiegeln*

Aufgrund der befindlichkeitsfördernden Effekte zentralen Insulins und Östradiols war die Annahme, dass hohe periphere Insulin- und Östradiolspiegel mit besserem Wohlbefinden assoziiert sind. Dies bestätigte sich allerdings weder für die Korrelation der Werte in den Befindlichkeitsmaßen mit dem peripheren Insulin- noch dem Östradiolspiegel. Wie auch bei der Korrelation der peripheren Hormonspiegel mit der Gedächtnisleistung bleibt auch hier zu beachten, dass die peripheren Hormonspiegel nicht das Niveau der zentralnervös wirksamen Spiegel abbilden (Martin et al., 2019).

*Insgesamt* sind die Hypothesen eines besseren Wohlbefindens durch Insulinapplikation vor allem durch eine Besserung des Befindens in den positiven Befindlichkeitsdimensionen bestätigt. Das Vorliegen und auch Ansprechen zentraler IR v.a. im Bereich der Amygdala und insulinvermittelte Einflüsse auf Katecholamine, die Befindlichkeit modifizieren sowie das Vorkommen von MAO scheinen hier ursächlich verantwortlich zu sein. Wie beschrieben scheint es, dass diese Prozesse zeitverzögert zur Befindlichkeitsverbesserung beitragen (bekannt bei gängigen antidepressiven Therapeutika, die ebenfalls über diese Prozesse wirken), was passend zu den hier erhobenen Daten ist: die Befindlichkeitsverbesserung trat im Verlauf - erst nach mehrwöchiger Insulingabe auf.

#### *Forschungsperspektiven*

Interessant wäre eine noch längerfristige Insulingabe (über mehr als 9 Wochen hinweg), um zu untersuchen, ob sich die erzielten Effekte dann statistisch bedeutsamer darstellen und länger erhalten bleiben, da ja in der vorliegenden Längsschnittuntersuchung vor allem die Besserung der Befindlichkeit in den positiven Dimensionen erst im Verlauf deutlich wurde. Auch für den Bereich der Befindlichkeitsuntersuchung wäre interessant, ob sich durch eine Steigerung der Insulindosis die Effekte noch deutlicher darstellen würden. Auch die nachgewiesenen klassisch konditionierten Effekte intranasalen Insulins auf die Verbesserung in den positiven Befindlichkeitsdimensionen stellt aus pharmakologischer Sicht einen interessanten Aspekt

dar, da die Behandlungseffekte auch über die Verumgabe hinaus länger stabilisiert werden könnten.

## 4.4 Klinische Forschungsperspektiven

Die Daten aus der vorliegenden Arbeit in Zusammenschau mit der aktuellen Literatur bestätigen die Beeinflussung intranasalen Insulins vor allem auf Befindlichkeit. Im folgenden Abschnitt wird besonders auf depressive Erkrankungen, aber auch auf die Alzheimer-Demenz, und metabolische Störungen eingegangen, da bei diesen Erkrankungen gemeinsame pathologische Komponenten (Störungen im zerebralen Glukose-Stoffwechsel und eine zentrale Insulinresistenz) vorliegen. Aus klinisch-pharmakologischer Sicht ist von Interesse, wie dieses Wissen beim Verständnis von diesen Erkrankungen und in weiteren Schritten auch bei der Therapie dieser Erkrankungen genutzt werden kann.

Es gibt es erste humanexperimentelle Studien, die sich mit dem Zusammenhang zwischen Insulinresistenz und Depression befassen. Unter den verschiedenen Faktoren, die im Sinne eines multifaktoriellen Geschehens mit der Entstehung einer Depression assoziiert sind, liegen nach Silva, Atlantis und Ismail (2012) auch erkennbare Hinweise darauf vor, dass das Vorliegen einer Insulinresistenz ein wesentlicher Faktor sein kann.

Auch im Bereich des Angstverhaltens gibt es erste Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen metabolischen Störungen (Hyperinsulinämie/Insulinresistenz, abdominellem Übergewicht, Hypertonie, Dyslipidämie) und einer Zunahme von ängstlichem Verhalten. Rebolledo-Solleiro et al. (2017) zeigten in diesem Sinne in einem Experiment mit Nagern, dass durch eine 24-wöchige Sukrose-Diät (Futter für alle Tiere gleich, bei Sukrose-Tieren eine 20%-Sukrose-Lösung ab libidum statt Wasser) zum einen erwartungsgemäß ein metabolisches Syndrom (MetS) hervorgerufen wurde (mit Zunahme des Körpergewichtes, des BMI, des Bauchumfanges, Erhöhung der Blutdruckwerte, BZ und Dyslipidämie). Es kam zudem – und dies ist hier relevant - auch zu einer Zunahme ängstlichen Verhaltens in drei Verhaltenstests. Auch im Humanbereich gibt es erste Grundlagen-Studien zur Furchtkonditionierung, die Effekte zentralen Insulins im Sinne einer verbesserten Furchtextinktion durch intranasale Insulingabe (Ferreira de Sá, Römer, Brückner, Issler, Hauck & Michael, 2020) aufzeigten und damit erste Hinweise auf förderliche Effekte von Insulin liefern, die in Zukunft klinische Relevanz z.B. bei der Behandlung von Angststörungen (McIntyre et al., 2012) haben könnten.

Bei der Pathologie der *Alzheimer-Demenz* wird seit Jahren intensiv geforscht und hier liegen mittlerweile viele Daten vor, die eine zentrale Funktionsstörung von IR bzw. eine defizitäre Insulinsignalfunktion feststellten. Und obwohl die genauen Pathomechanismen bislang nicht

vollständig geklärt sind, zeichnet sich ein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer AD und Veränderungen in der Signalwirkung von zentralen IR und dem zentralen Insulin-Stoffwechsel immer deutlicher ab (Willette, 2016, zf. u.a.: Hoyer, 1998; de la Monte & Wands, 2005; de la Monte 2013; Talbot & Wang, 2014; De Felice & Benedict, 2015; Spinelli et al., 2019). Übereinstimmend hiermit sind erste Ergebnisse, die bei AD-Patienten positive Effekte auf kognitive Fähigkeiten, Alltagsfertigkeiten und einen verlangsamten Krankheitsverlauf der AD bei Erhöhung zentralen Insulinvorkommens zeigen (Reger et al., 2006; Reger et al., 2008; Craft et al., 2012; Craft et al., 2017; zf. Erichsen, Calva, Reagan & Fadel, 2021). In einer großangelegten klinischen 18-monatigen Phase-2 Studie der Arbeitsgruppe Craft et al. (2020) konnte zwar nur bei einem Teil der MCI und AD-Patienten – nämlich unter Verwendung von einem von zwei verschiedenen Nasenspraysystemen zur intranasalen Insulinapplikation – eine Verbesserung auf den Erhalt der Alltagsfertigkeiten und verbesserte Biomarker Profile in der CSF (gegendüber Placebo) festgestellt werden. Bei weiterer Untersuchung der Pbn, die unter Insulingabe in der o.g. Studie profitierten, zeigte sich ein deutlicher Rückgang der unter AD typischen Marker für Inflammation und Immundefizienz in der CSF (Anstieg Interferon  $\gamma$  und Eotaxin, Abfall Interleukin 6). Diese Veränderungen kann man als Hinweis auf Effekte der Immunantwort nach Insulingabe deuten, deren u.a. antiinflammatorische Wirkung man therapeutisch nutzen kann (Kellar et al., 2022).

Auch bei Betrachtung gemeinsamer pathologischer Komponenten zwischen AD und T2D trifft man wieder auf die Annahme, dass vermutlich inflammatorische Gewebeprozesse, Störungen des Insulinstoffwechsels bzw. die Insulinresistenz und Dysfunktionen der Mitochondrien, v.a. in Neuronen und Astrozyten maßgeblich involviert sind (De Felice, 2013 und 2015; zf. Spinelli et al., 2019). Dies legt die Prüfung auch von Antidiabetika zur Verbesserung kognitiver Funktionen nahe, um zu prüfen, ob die Behandlung mit Insulin-Sensitizern, die in der Therapie von T2D schon sehr lange verbreitet sind, auch positive Ergebnisse bei AD erzielen können (de la Monte & Wands, 2005). In ersten klinischen Studien mit AD-Patienten konnte unter Metformin, einem oralen Antidiabetikum der Biguanid-Klasse, eine leichte Verbesserung der Gedächtnisleistung in einzelnen Tests festgestellt werden (Koenig et al., 2017; Luchsinger et al., 2016). Allerdings sind die bisherigen Ergebnisse auf diesem Feld nicht einheitlich, so hatten die Insulin-Sensitizer Rosiglitazone und Pioglitazone in 5 durchgeführten klinischen Studien keinen positiven bzw. nur sehr limitierten positiven Effekt auf die Gedächtnisleistung von AD-Patienten (Miller, Willett & Desilets, 2011). Der an sich vielversprechende Ansatz, die Insulinwirkung über Antidiabetika auch zentral zu verbessern, bedarf daher noch ausgiebiger weiterer Forschung und Erprobung. Auch dafür sind Daten zu zentral wirksamem Insulin bei Gesunden eine wichtige Grundlage.

Ein weiterer sehr interessanter Ansatzpunkt ist die *Komorbidität zwischen MetS, Insulinresistenz und Depression, Ängstlichkeit sowie AD*: Wie bei T2D und AD sind interessanterweise auch bei Depressionen Störungen im zerebralen Glukose-Stoffwechsel nachweisbar und auch eine zentrale Insulinresistenz wird als ein pathologischer Faktor beim Vorliegen einer Depression diskutiert (zf. Lee et al., 2016). Eine depressive Erkrankung scheint das Risiko einer späteren Demenzerkrankung zu erhöhen (zf. Ownby, Crocco, Acevedo, John & Loewenstein, 2006; Herbert & Lucassen, 2016). Und bei einer vorliegenden AD-Erkrankung ist eine depressive Erkrankung die häufigste psychiatrische komorbide Erkrankung (u.a. Rodrigues, Petersen & Perry, 2014; Novais & Starkstein, 2015).

Gerade um das Wissen der Komorbidität dieser häufig vorkommenden Erkrankungen auch therapeutisch nutzen zu können ist weitere Forschung auch bei Gesunden essenziell um Zusammenhänge und differenzierte Effekte zentralen Insulins besser einordnen zu können.

Aus den referierten Arbeiten wird deutlich, dass Pathologien im zentralen Insulinstoffwechsel assoziiert sind mit Depressionen, Ängstlichkeit und Demenz. Der bisherige Schwerpunkt der klinischen Forschung in diesen Bereichen lag sicherlich bei der weit verbreiteten AD. In der vorliegenden Arbeit konnten allerdings interessante und vielversprechende Aspekte zur Befindlichkeit bei gesunden Pbn gezeigt werden: intranasales Insulin führte, v.a. nach längerfristiger Gabe, zur Befindlichkeitsverbesserung. Dies verdeutlicht, dass sich die Forschung auch auf die Bereiche Depression und Angststörungen ausweiten sollte, um noch deutlicher zu untersuchen, ob intranasales Insulin dort therapeutisch genutzt werden kann, gerade weil die Datenlage hierzu bislang begrenzt ist.

## 4.5 Limitationen

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt je 22 gesunde Männer und Frauen über einen Zeitraum von 16 Wochen untersucht. Durch die Untergruppierungen (nach Geschlecht, Substanzbedingung, Follow-up Sprühbedingung) waren die jeweiligen Stichprobengrößen der Subgruppen für einige Analysen klein. Das gewählte Studiendesign ermöglichte die Erfassung von Langezeitgedächtnisbeeinflussung von Insulin. Für Folgestudien wäre allerdings – nach dem aktuellen, weiterentwickelten Wissensstand – eine Überprüfung der Gedächtnisleistung im zeitverzögerten Abruf, d.h. in einem Zeitfenster von 24 Stunden oder mehr, sinnvoll. Da Insulin Gedächtniskonsolidierungsprozesse beeinflusst, würden Gedächtniseffekte im zeitverzögerten Abruf vermutlich besser und einheitlicher sichtbar.

Vorteile in der vorliegenden Arbeit lagen sicherlich in der ausschließlichen Betrachtung freizyklischer Frauen, da so eine bessere Beobachtung von Insulineffekten unter natürlichen

Bedingungen - mit zyklusabhängigen Schwankungen der Sexualhormonspiegel - betrachtet werden konnten. Die Verwendung von m-Cresol als Placebo (geruchsidentisch mit Insulin) bot den Vorteil, dass intranasales Verum (Insulin) und Placebo olfaktorisch nicht unterscheidbar waren und eine bessere Verblindung von Pbn und Versuchsleitern erfolgen konnte. Zudem bietet der Geruch auch einen Vorteil bei Betrachtung möglicher Konditionierungseffekte, da er mit dem typisch teeartigen Geruch als US im Treatment gut geeignet war. Das gewählte Design der Studie ermöglichte die lange Beobachtung der Pbn während Treatmentphase und darüber hinaus im Follow-up und somit die Möglichkeit Langzeiteffekte zentralen Insulins zu untersuchen, ein Überdauern von Effekten über das Treatment hinaus zu erfassen und mögliche klassische Konditionierungseffekte zu untersuchen.

## 4.6 Schlussfolgerungen

*Zusammenfassend* zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass intranasal verabreichtes Insulin v.a. die Befindlichkeit positiv beeinflusst. Bei peripherem Östradiol wurde bei Männern in zwei Einzelwochen ein angedeuteter Unterschied zwischen Insulin- und Placebo Behandlung beobachtet. Deutlicher waren die differentiellen Effekte nach Geschlecht bei der Gedächtnisleistung: nur Frauen profitierten von den gedächtnisfördernden Effekten von intranasalem Insulin in figuralen Tests nach langfristiger Insulingabe (späte Treatmentphase) und am deutlichsten im Follow-up. Auch bei der Befindlichkeit bestätigte sich die differentielle Sensitivität der Insulineffekte, indem Insulin behandelte Frauen besonders von den befindlichkeitsfördernden Effekten in der Dimension „*Allgemeines Wohlbefinden*“ (im Gesamtwert der Treatmentphase und im Follow-up) und bei der Dimension „*Leistungsbezogene Aktivität*“ nach längerfristiger Insulingabe (spätes Treatment und Follow-up) profitierten. Bei Insulin behandelten Männern kam es in der Dimension „*Extraversion/Introversion*“ zur Befindlichkeitsverbesserung im Follow-up. Die Befindlichkeitsverbesserungen nach intranasaler Insulingabe konnten teilweise auch als klassisch konditionierte Effekte erhalten bleiben.

Die vorliegenden Befunde bestätigen also die differentielle Sensitivität insulininduzierter Langzeiteffekte auf Befindlichkeit erstmals bei freizyklierenden gesunden Frauen. Es wird weitere Forschung auf diesem Gebiet notwendig sein, um die Ergebnisse gesunder Pbn auch hinsichtlich klinischer bzw. therapeutischer Relevanz besser einschätzen und nutzen zu können. Dennoch zeichnen sich vielversprechende Ansätze ab, die bei der Behandlung von Depressionen, aber auch belohnendem Essverhalten bei Adipositas. Bei der Betrachtung von möglichen insulinmodifizierten Gedächtnisparametern verdeutlicht die vorliegende Arbeit, dass die differenzierte Betrachtung (differentielle Sensitivität je nach Geschlecht und Mitberücksichtigung unterschiedlich gewichteter Gedächtnistests) sinnvoll ist. Auch hierfür sind weitere

Untersuchungen an gesunden Pbn notwendig, die dann gegebenenfalls auch bei der Therapie kognitiver Einbußen (wie bei MCI oder AD) von Interesse und Nutzen sein können.

# Literaturverzeichnis

- Adzovic, L., Lynn, A. E., D'Angelo, H. M., Crockett, A. M., Kaercher, R. M., Royer, S. E., Hopp, S. C., & Wenk, G. L. (2015). Insulin improves memory and reduces chronic neuroinflammation in the hippocampus of young but not aged brains. *Journal of Neuroinflammation*, *12*, 63. <https://doi.org/10.1186/s12974-015-0282-z>
- 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*(1-2), 423–429. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(01\)00780-8](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00780-8)
- Alzheimer's Disease International: World Alzheimer Report 2020; <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2020/> s. auch Statistics
- Anderson, D. K., & Hazelwood, R. L. (1969). Chicken cerebrospinal fluid: normal composition and response to insulin administration. *The Journal of Physiology*, *202*(1), 83–95. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1969.sp008796>
- Antov, M. I., & Stockhorst, U. (2018). Women with high estradiol status are protected against declarative memory impairment by pre-learning stress. *Neurobiology of Learning and Memory*, *155*, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.08.018>
- Babri S., Badie H. G., Khamenei S., Seyedlar M. O. (2007). Intrahippocampal insulin improves memory in a passive-avoidance task in male wistar rats. *Brain and Cognition*, *64*, 86–91. <https://psycnet.apa.org/doi/10.1016/j.bandc.2007.01.002>
- Beirami, E., Oryan, S., Seyedhosseini Tamijani, S. M., Ahmadiani, A., & Dargahi, L. (2017). Intranasal insulin treatment alleviates methamphetamine induced anxiety-like behavior and neuroinflammation. *Neuroscience Letters*, *660*, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.09.026>
- Baldini, S., Restani, L., Baroncelli, L., Coltelli, M., Franco, R., Cenni, M. C., Maffei, L., & Berardi, N. (2013). Enriched early life experiences reduce adult anxiety-like behavior in rats: a role for insulin-like growth factor 1. *The Journal of Neuroscience : the official Journal of the Society for Neuroscience*, *33*(28), 11715–11723. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3541-12.2013>
- Baskin, D. G., Marks, J. L., Schwartz, M. W., Figlewicz, D. P., Woods, S. C. & Porte, D., Jr. (1993). Insulin und insulin receptors in the brain in relation to food intake and body weight. In H. Lehnert, R. Murison, H. Weiner, D. Hellhammer & J. Beyer (Eds.), *Neuronal control of bodily function: Basic and clinical aspects. (Vol.7: Endocrine and nutritional Control of basic biological Functions)* (pp. 209-222). Seattle: Hogrefe & Huber Publishers.
- Baskin, D. G., Porte, D., Jr, Guest, K., & Dorsa, D. M. (1983). Regional concentrations of insulin in the rat brain. *Endocrinology*, *112*(3), 898–903. <https://doi.org/10.1210/endo-112-3-898>
- Bäumler, G. (1974): *Lern- und Gedächtnistest LGT-3*. Göttingen: Hogrefe Verlag für Psychologie.
- Benedict, C., Hallschmid, M., Hatke, A., Schultes, B., Fehm, H. L., Born, J., & Kern, W. (2004). Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology*, *29*(10), 1326–1334. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.04.003>
- Benedict, C., Hallschmid, M., Schmitz, K., Schultes, B., Ratter, F., Fehm, H. L., Born, J., & Kern, W. (2007). Intranasal insulin improves memory in humans: superiority of insulin aspart. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *32*(1), 239–243. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301193>
- 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. *The Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*, *93*(4), 1339–1344. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-2606>
- 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). Bestand der Universitätsbibliothek Düsseldorf, Signatur d/e8262.

- 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*(6), 514–516. <https://doi.org/10.1038/nn849>
- Bove, R., Secor, E., Chibnik, L. B., Barnes, L. L., Schneider, J. A., Bennett, D. A., & De Jager, P. L. (2014). Age at surgical menopause influences cognitive decline and Alzheimer pathology in older women. *Neurology*, *82*(3), 222–229. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000033>
- Brief, D. J., & Davis, J. D. (1984). Reduction of food intake and body weight by chronic intraventricular insulin infusion. *Brain Research Bulletin*, *12*(5), 571–575. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(84\)90174-6](https://doi.org/10.1016/0361-9230(84)90174-6)
- Brünner, Y. F., Kofoet, A., Benedict, C., & Freiherr, J. (2015). Central insulin administration improves odor-cued reactivation of spatial memory in young men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *100*(1), 212–219. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3018>
- Cai, W., Xue, C., Sakaguchi, M., Konishi, M., Shirazian, A., Ferris, H. A., Li, M. E., Yu, R., Kleinridders, A., Pothos, E. N., & Kahn, C. R. (2018). Insulin regulates astrocyte gliotransmission and modulates behavior. *The Journal of Clinical Investigation*, *128*(7), 2914–2926. <https://doi.org/10.1172/JCI99366>
- Chen, M., Woods, S. C., & Porte, D., Jr (1975). Effect of cerebral intraventricular insulin on pancreatic insulin secretion in the dog. *Diabetes*, *24*(10), 910–914. <https://doi.org/10.2337/diab.24.10.910>
- Chow, H. S., Chen, Z., & Matsuura, G. T. (1999). Direct transport of cocaine from the nasal cavity to the brain following intranasal cocaine administration in rats. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *88*(8), 754–758. <https://doi.org/10.1021/js9900295>
- Chowers, I., Lavy, S., & Halpern, L. (1966). Effect of insulin administered intracisternally on the glucose level of the blood and the cerebrospinal fluid in vagotomized dogs. *Experimental Neurology*, *14*(3), 383–389. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(66\)90122-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(66)90122-1)
- Clegg, D. J., Brown, L. M., Woods, S. C., & Benoit, S. C. (2006). Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes*, *55*(4), 978–987. <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.04.06.db05-1339>
- Clegg, D. J., Riedy, C. A., Smith, K. A., Benoit, S. C., & Woods, S. C. (2003). Differential sensitivity to central leptin and insulin in male and female rats. *Diabetes*, *52*(3), 682–687. <https://doi.org/10.2337/diabetes.52.3.682>
- Cline, B. H., Steinbusch, H. W., Malin, D., Revishchin, A. V., Pavlova, G. V., Cespuglio, R., & Strekalova, T. (2012). The neuronal insulin sensitizer dicholine succinate reduces stress-induced depressive traits and memory deficit: possible role of insulin-like growth factor 2. *BMC Neuroscience*, *13*, 110. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-110>
- Craft, S., Baker, L. D., Montine, T. J., Minoshima, S., Watson, G. S., Claxton, A., Arbuckle, M., Callaghan, M., Tsai, E., Plymate, S. R., Green, P. S., Leverenz, J., Cross, D., & Gerton, B. (2012). Intranasal insulin therapy for Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment: a pilot clinical trial. *Archives of Neurology*, *69*(1), 29–38. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.233>
- Craft, S., Claxton, A., Baker, L. D., Hanson, A. J., Cholerton, B., Trittschuh, E. H., Dahl, D., Caulder, E., Neth, B., Montine, T. J., Jung, Y., Maldjian, J., Whitlow, C., & Friedman, S. (2017). Effects of Regular and Long-Acting Insulin on Cognition and Alzheimer's Disease Biomarkers: A Pilot Clinical Trial. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, *57*(4), 1325–1334. <https://doi.org/10.3233/JAD-161256>
- Craft, S., Raman, R., Chow, T. W., Rafii, M. S., Sun, C. K., Rissman, R. A., Donohue, M. C., Brewer, J. B., Jenkins, C., Harless, K., Gessert, D., & Aisen, P. S. (2020). Safety, Efficacy, and Feasibility of Intranasal Insulin for the Treatment of Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease Dementia: A Randomized Clinical Trial. *JAMA neurology*, *77*(9), 1099–1109. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1840>

- Dahlin, M., Jansson, B., & Björk, E. (2001). Levels of dopamine in blood and brain following nasal administration to rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 75–80. [https://doi.org/10.1016/s0928-0987\(01\)00151-8](https://doi.org/10.1016/s0928-0987(01)00151-8)
- De Felice F. G. (2013). Alzheimer's disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(2), 531–539. <https://doi.org/10.1172/JCI64595>
- De Felice, F. G., & Benedict, C. (2015). A Key Role of Insulin Receptors in Memory. *Diabetes*, 64(11), 3653–3655. <https://doi.org/10.2337/dbi15-0011>
- de la Monte S. M. (2014). Relationships between diabetes and cognitive impairment. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 43(1), 245–267. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.09.006>
- de la Monte, S. M., & Wands, J. R. (2005). Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 7(1), 45–61. <https://doi.org/10.3233/jad-2005-7106>
- de Kruif, M., Spijker, A. T., & Molendijk, M. L. (2016). Depression during the perimenopause: A meta-analysis. *Journal of Affective Disorders*, 206, 174–180. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.07.040>
- Deutsche Alzheimer Gesellschaft. Factsheets Häufigkeit Demenzerkrankungen (2020). <https://www.deutsche-alzheimer.de/demenz-wissen>
- Duarte, A. I., Santos, M. S., Oliveira, C. R., & Rego, A. C. (2005). Insulin neuroprotection against oxidative stress in cortical neurons--involvement of uric acid and glutathione antioxidant defenses. *Free Radical Biology & Medicine*, 39(7), 876–889. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.05.002>
- Duman R. S. (2009). Neuronal damage and protection in the pathophysiology and treatment of psychiatric illness: stress and depression. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 11(3), 239–255. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2009.11.3/rsduman>
- Erichsen, J. M., Calva, C. B., Reagan, L. P., & Fadel, J. R. (2021). Intranasal insulin and orexins to treat age-related cognitive decline. *Physiology & Behavior*, 234, 113370. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113370>
- Ferrario, C. R., & Reagan, L. P. (2018). Insulin-mediated synaptic plasticity in the CNS: Anatomical, functional and temporal contexts. *Neuropharmacology*, 136 (Pt B), 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.12.001>
- Ferreira de Sá, D. S., Römer, S., Brückner, A. H., Issler, T., Hauck, A., & Michael, T. (2020). Effects of intranasal insulin as an enhancer of fear extinction: a randomized, double-blind, placebo-controlled experimental study. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 45(5), 753–760. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0593-3>
- Figlewicz, D. P., & Sipols, A. J. (2010). Energy regulatory signals and food reward. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 97(1), 15–24. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.03.002>
- Freiherr, J., Hallschmid, M., Frey, W. H., 2nd, Brünner, Y. F., Chapman, C. D., Hölscher, C., Craft, S., De Felice, F. G., & Benedict, C. (2013). Intranasal insulin as a treatment for Alzheimer's disease: a review of basic research and clinical evidence. *CNS Drugs*, 27(7), 505–514. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0076-8>
- Freeman, E. W., Sammel, M. D., Boorman, D. W., & Zhang, R. (2014). Longitudinal pattern of depressive symptoms around natural menopause. *JAMA Psychiatry*, 71(1), 36–43. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.2819>
- Frey, U., Morris, R. (1998). Synaptic tagging: implications for late maintenance of hippocampal long-term potentiation, *Trends in Neurosciences*, Volume 21, Issue (181-188), ISSN 0166-2236, [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(97\)01189-2](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(97)01189-2).

- Gasbarri, A., Tavares, M. C., Rodrigues, R. C., Tomaz, C., & Pompili, A. (2012). Estrogen, cognitive functions and emotion: an overview on humans, non-human primates and rodents in reproductive years. *Reviews in the Neurosciences*, 23(5-6), 587–606. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2012-0051>
- Gerozissis K. (2003). Brain insulin: regulation, mechanisms of action and functions. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 23(1), 1–25. <https://doi.org/10.1023/a:1022598900246>
- Glover, E. M., Mercer, K. B., Norrholm, S. D., Davis, M., Duncan, E., Bradley, B., Ressler, K. J., & Jovanovic, T. (2013). Inhibition of fear is differentially associated with cycling estrogen levels in women. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 38(5), 341–348. <https://doi.org/10.1503/jpn.120129>
- González, C., Díaz, F., & Alonso, A. (2008). Neuroprotective effects of estrogens: cross-talk between estrogen and intracellular insulin signalling. *Infectious Disorders Drug Targets*, 8(1), 65–67. <https://doi.org/10.2174/187152608784139659>
- Grillo, C. A., Piroli, G. G., Kaigler, K. F., Wilson, S. P., Wilson, M. A., & Reagan, L. P. (2011). Downregulation of hypothalamic insulin receptor expression elicits depressive-like behaviors in rats. *Behavioural Brain Research*, 222(1), 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.052>
- Grillo, C. A., Piroli, G. G., Lawrence, R. C., Wrihten, S. A., Green, A. J., Wilson, S. P., Sakai, R. R., Kelly, S. J., Wilson, M. A., Mott, D. D., & Reagan, L. P. (2015). Hippocampal Insulin Resistance Impairs Spatial Learning and Synaptic Plasticity. *Diabetes*, 64(11), 3927–3936. <https://doi.org/10.2337/db15-0596>
- Grünblatt, E., Salkovic-Petrisic, M., Osmanovic, J., Riederer, P., & Hoyer, S. (2007). Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *Journal of Neurochemistry*, 101(3), 757–770. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04368.x>
- Haj-ali, V., Mohaddes, G., & Babri, S. H. (2009). Intracerebroventricular insulin improves spatial learning and memory in male Wistar rats. *Behavioral Neuroscience*, 123(6), 1309–1314. <https://doi.org/10.1037/a0017722>
- Hallschmid M. (2021). Intranasal insulin. *Journal of Neuroendocrinology*, 33(4), e12934. <https://doi.org/10.1111/jne.12934>
- 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 (2005)*, 32(2), 275–282. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803722>
- Hallschmid, M., Benedict, C., Born, J., Fehm, H. L., & Kern, W. (2004). Manipulating central nervous mechanisms of food intake and body weight regulation by intranasal administration of neuropeptides in man. *Physiology & Behavior*, 83(1), 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.07.023>
- 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(11), 3024–3029. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.11.3024>
- Hallschmid, M., Higgs, S., Thienel, M., Ott, V., & Lehnert, H. (2012). Postprandial administration of intranasal insulin intensifies satiety and reduces intake of palatable snacks in women. *Diabetes*, 61(4), 782–789. <https://doi.org/10.2337/db11-1390>
- Havrankova, J., Roth, J., & Brownstein, M. (1978). Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*, 272(5656), 827–829. <https://doi.org/10.1038/272827a0>
- Herbert, J., & Lucassen, P. J. (2016). Depression as a risk factor for Alzheimer's disease: Genes, steroids, cytokines and neurogenesis - What do we need to know?. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 41, 153–171. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2015.12.001>
- Hölscher C. (2005). Development of beta-amyloid-induced neurodegeneration in Alzheimer's disease and novel neuroprotective strategies. *Reviews in the Neurosciences*, 16(3), 181–212. <https://doi.org/10.1515/revneuro.2005.16.3.181>

- Hopkins, D. F., & Williams, G. (1997). Insulin receptors are widely distributed in human brain and bind human and porcine insulin with equal affinity. *Diabetic Medicine: a Journal of the British Diabetic Association*, 14(12), 1044–1050. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199712\)14:12<1044](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199712)14:12<1044)
- Hoyer S. (1998). Is sporadic Alzheimer disease the brain type of non-insulin dependent diabetes mellitus? A challenging hypothesis. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 105 (4-5), 415–422. <https://doi.org/10.1007/s007020050067>
- Huang, Y., & Mucke, L. (2012). Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell*, 148(6), 1204–1222. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.040>
- Ikeda, H., West, D. B., Pustek, J. J., Figlewicz, D. P., Greenwood, M. R., Porte, D., Jr, & Woods, S. C. (1986). Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats. *Appetite*, 7(4), 381–386. [https://doi.org/10.1016/s0195-6663\(86\)80006-x](https://doi.org/10.1016/s0195-6663(86)80006-x)
- Illum L. (2004). Is nose-to-brain transport of drugs in man a reality? *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(1), 3–17. <https://doi.org/10.1211/0022357022539>
- Janke, W., Debus, G. (1978). *Die Eigenschaftswörterliste EWL*, Göttingen: Hogrefe Verlag für Psychologie.
- Janke, W., Debus, G. (1983). *EWL 60-S*, unveröffentlichte Kurzform der Eigenschaftswörterliste EWL, verwendet unter Genehmigung der Autoren.
- Kellar, D., Register, T., Lockhart, S. N., Aisen, P., Raman, R., Rissman, R. A., Brewer, J., & Craft, S. (2022). Intranasal insulin modulates cerebrospinal fluid markers of neuroinflammation in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a randomized trial. *Scientific Reports*, 12(1), 1346. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05165-3>
- Kern, W., Born, J., Schreiber, H., & Fehm, H. L. (1999). Central nervous system effects of intranasally administered insulin during euglycemia in men. *Diabetes*, 48(3), 557–563. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.3.557>
- Kern, W., Peters, A., Fruehwald-Schultes, B., Deininger, E., Born, J., & Fehm, H. L. (2001). Improving influence of insulin on cognitive functions in humans. *Neuroendocrinology*, 74(4), 270–280. <https://doi.org/10.1159/000054694>
- Kleinridders, A., Cai, W., Cappellucci, L., Ghazarian, A., Collins, W. R., Vienberg, S. G., Pothos, E. N., & Kahn, C. R. (2015). Insulin resistance in brain alters dopamine turnover and causes behavioral disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(11), 3463–3468. <https://doi.org/10.1073/pnas.1500877112>
- Kraemer, H.C. (1975). On estimation and hypothesis testing problems for correlation coefficients. *Psychometrika* 40, 473–485. <https://doi.org/10.1007/BF02291550>
- Koenig, A. M., Mechanic-Hamilton, D., Xie, S. X., Combs, M. F., Cappola, A. R., Xie, L., Detre, J. A., Wolk, D. A., & Arnold, S. E. (2017). Effects of the Insulin Sensitizer Metformin in Alzheimer Disease: Pilot Data From a Randomized Placebo-controlled Crossover Study. *Alzheimer Disease and Associated Disorders*, 31(2), 107–113. <https://doi.org/10.1097/WAD.0000000000000202>
- 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. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(12), E468–E472. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0744>
- Kullmann, S., Frank, S., Heni, M., Ketterer, C., Veit, R., Häring, H. U., Fritsche, A., & Preissl, H. (2013). Intranasal insulin modulates intrinsic reward and prefrontal circuitry of the human brain in lean women. *Neuroendocrinology*, 97(2), 176–182. <https://doi.org/10.1159/000341406>
- Kullmann, S., Heni, M., Fritsche, A., & Preissl, H. (2015). Insulin action in the human brain: evidence from neuroimaging studies. *Journal of Neuroendocrinology*, 27(6), 419–423. <https://doi.org/10.1111/jne.12254>

- Kullmann, S., Heni, M., Hallschmid, M., Fritsche, A., Preissl, H., & Häring, H. U. (2016). Brain Insulin Resistance at the Crossroads of Metabolic and Cognitive Disorders in Humans. *Physiological Reviews*, *96*(4), 1169–1209. <https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2015>
- Kullmann, S., Veit, R., Peter, A., Pohmann, R., Scheffler, K., Häring, H. U., Fritsche, A., Preissl, H., & Heni, M. (2018). Dose-Dependent Effects of Intranasal Insulin on Resting-State Brain Activity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *103*(1), 253–262. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01976>
- 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. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *95*(12), E468–E472. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0744>
- Lannert, H., & Hoyer, S. (1998). Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. *Behavioral Neuroscience*, *112*(5), 1199–1208. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.5.1199>
- Lee, S. H., Zabolotny, J. M., Huang, H., Lee, H., & Kim, Y. B. (2016). Insulin in the nervous system and the mind: Functions in metabolism, memory, and mood. *Molecular Metabolism*, *5*(8), 589–601. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2016.06.011>
- Lisman, J. E., & Grace, A. A. (2005). The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, *46*(5), 703–713. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.05.002>
- Löffler, G. (2008). *Basiswissen Biochemie. (S. 343-347)*. Heidelberg: Springer Verlag.
- Löhr, S. (2016). Effekte intranasalen Insulins auf die Nahrungsaufnahme unter natürlichen Bedingungen (Dissertation, Medizinische Fakultät Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf). <https://docserv.uni-duesseldorf.de/servlets/DocumentServlet?id=40346>
- Luchsinger, J. A., Perez, T., Chang, H., Mehta, P., Steffener, J., Pradabhan, G., Ichise, M., Manly, J., Devanand, D. P., & Bagiella, E. (2016). Metformin in Amnesic Mild Cognitive Impairment: Results of a Pilot Randomized Placebo Controlled Clinical Trial. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, *51*(2), 501–514. <https://doi.org/10.3233/JAD-150493>
- Luine, V., Serrano, P., & Frankfurt, M. (2018). Rapid effects on memory consolidation and spine morphology by estradiol in female and male rodents. *Hormones and Behavior*, *104*, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2018.04.007>
- Lundqvist, M. H., Almy, K., Abrahamsson, N., & Eriksson, J. W. (2019). Is the Brain a Key Player in Glucose Regulation and Development of Type 2 Diabetes? *Frontiers in Physiology*, *10*, 457. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00457>
- Machado-Vieira, R., Henter, I. D., & Zarate, C. A., Jr (2017). New targets for rapid antidepressant action. *Progress in Neurobiology*, *152*, 21–37. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.12.001>
- Machado-Vieira, R., Baumann, J., Wheeler-Castillo, C., Latov, D., Henter, I. D., Salvadore, G., & Zarate, C. A. (2010). The Timing of Antidepressant Effects: A Comparison of Diverse Pharmacological and Somatic Treatments. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, *3*(1), 19–41. <https://doi.org/10.3390/ph3010019>
- Marks, D. R., Tucker, K., Cavallin, M. A., Mast, T. G., & Fadool, D. A. (2009). Awake intranasal insulin delivery modifies protein complexes and alters memory, anxiety, and olfactory behaviors. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, *29*(20), 6734–6751. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1350-09.2009>
- Marrocco, J., & McEwen, B. S. (2016). Sex in the brain: hormones and sex differences. *Dialogues in clinical Neuroscience*, *18*(4), 373–383. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2016.18.4/jmarrocco>
- Martin, J., Plank, E., Jungwirth, B., Hapfelmeier, A., Podtschaske, A., & Kagerbauer, S. M. (2019). Weak correlations between serum and cerebrospinal fluid levels of estradiol, progesterone and

- testosterone in males. *BMC Neuroscience*, 20(1), 53. <https://doi.org/10.1186/s12868-019-0535-3>
- McEwen, B. S., & Alves, S. E. (1999). Estrogen actions in the central nervous system. *Endocrine Reviews*, 20(3), 279–307. <https://doi.org/10.1210/edrv.20.3.0365>
- McEwen, B. S., & Milner, T. A. (2017). Understanding the broad influence of sex hormones and sex differences in the brain. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1-2), 24–39. <https://doi.org/10.1002/jnr.23809>
- McIntyre, R. S., Soczynska, J. K., Woldeyohannes, H. O., Miranda, A., Vaccarino, A., Macqueen, G., Lewis, G. F., & Kennedy, S. H. (2012). A randomized, double-blind, controlled trial evaluating the effect of intranasal insulin on neurocognitive function in euthymic patients with bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, 14(7), 697–706. <https://doi.org/10.1111/bdi.12006>
- Miller, B. W., Willett, K. C., & Desilets, A. R. (2011). Rosiglitazone and pioglitazone for the treatment of Alzheimer's disease. *The Annals of Pharmacotherapy*, 45(11), 1416–1424. <https://doi.org/10.1345/aph.1Q238>
- Moosavi, M., Naghdi, N., Maghsoudi, N., & Zahedi Asl, S. (2007). Insulin protects against stress-induced impairments in water maze performance. *Behavioural Brain Research*, 176(2), 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.10.011>
- Nguyen, T., Chan, L. C., Borreginne, K., Kale, R. P., Hu, C., & Tye, S. J. (2018). A review of brain insulin signaling in mood disorders: From biomarker to clinical target. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 92, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.neubior.2018.05.014>
- Nielsen, S. E., Ahmed, I., & Cahill, L. (2013). Sex and menstrual cycle phase at encoding influence emotional memory for gist and detail. *Neurobiology of Learning and Memory*, 106, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.07.015>
- Novais, F., & Starkstein, S. (2015). Phenomenology of Depression in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 47(4), 845–855. <https://doi.org/10.3233/JAD-148004>
- Obici, S., Feng, Z., Karkanas, G., Baskin, D. G., & Rossetti, L. (2002). Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nature Neuroscience*, 5(6), 566–572. <https://doi.org/10.1038/nn0602-861>
- Ott, V., Lehnert, H., Staub, J., Wönne, K., Born, J., & Hallschmid, M. (2015). Central nervous insulin administration does not potentiate the acute glucoregulatory impact of concurrent mild hyperinsulinemia. *Diabetes*, 64(3), 760–765. <https://doi.org/10.2337/db14-0931>
- Ott, A., Stolk, R. P., van Harskamp, F., Pols, H. A., Hofman, A., & Breteler, M. M. (1999). Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study. *Neurology*, 53(9), 1937–1942. <https://doi.org/10.1212/wnl.53.9.1937>
- Ownby, R. L., Crocco, E., Acevedo, A., John, V., & Loewenstein, D. (2006). Depression and risk for Alzheimer disease: systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. *Archives of General Psychiatry*, 63(5), 530–538. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.5.530>
- Palouzier-Paulignan, B., Lacroix, M. C., Aimé, P., Baly, C., Caillol, M., Congar, P., Julliard, A. K., Tucker, K., & Fadool, D. A. (2012). Olfaction under metabolic influences. *Chemical Senses*, 37(9), 769–797. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjs059>
- Park, C. R., Seeley, R. J., Craft, S., & Woods, S. C. (2000). Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiology & Behavior*, 68(4), 509–514. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(99\)00220-6](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(99)00220-6)
- Perl, D. P. & Good, P. F. (1987). Uptake of aluminium into central nervous system along nasal-olfactory pathways. *Lancet (London, England)*, 1(8540), 1028. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)92288-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)92288-4)
- Petersen, N., London, E. D., Liang, L., Ghahremani, D. G., Gerards, R., Goldman, L., & Rapkin, A. J. (2016). Emotion regulation in women with premenstrual dysphoric disorder. *Archives of Women's*

- Rebolledo-Solleiro D, Roldán-Roldán G, Díaz D, Velasco M, Larqué C, Rico-Rosillo G, Vega-Robledo GB, Zambrano E, Hiriart M, Pérez de la Mora M. Increased anxiety-like behavior is associated with the metabolic syndrome in non-stressed rats. *PLoS One*. 2017 May 2;12(5):e0176554. doi: 10.1371/journal.pone.0176554. PMID: 28463967; PMCID: PMC5413000.
- Reger, M. A., Watson, G. S., Frey, W. H., 2nd, Baker, L. D., Cholerton, B., Keeling, M. L., Belongia, D. A., Fishel, M. A., Plymate, S. R., Schellenberg, G. D., Cherrier, M. M., & Craft, S. (2006). Effects of intranasal insulin on cognition in memory-impaired older adults: modulation by APOE genotype. *Neurobiology of Aging*, 27(3), 451–458. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.03.016>
- Reger, M. A., Watson, G. S., Green, P. S., Wilkinson, C. W., Baker, L. D., Cholerton, B., Fishel, M. A., Plymate, S. R., Breitner, J. C., DeGroot, W., Mehta, P., & Craft, S. (2008). Intranasal insulin improves cognition and modulates beta-amyloid in early AD. *Neurology*, 70(6), 440–448. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000265401.62434.36>
- Reger, M. A., & Craft, S. (2006). Intranasal insulin administration: a method for dissociating central and peripheral effects of insulin. *Drugs of Today (Barcelona, Spain: 1998)*, 42(11), 729–739. <https://doi.org/10.1358/dot.2006.42.11.1007675>
- Rodrigues, R., Petersen, R. B., & Perry, G. (2014). Parallels between major depressive disorder and Alzheimer's disease: role of oxidative stress and genetic vulnerability. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 34(7), 925–949. <https://doi.org/10.1007/s10571-014-0074-5>
- Sánchez-Lasheras, C., Könnner, A. C., & Brüning, J. C. (2010). Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(1), 4–15. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.08.002>
- Schellig, D., Schächtele, B. (2004). *Visueller und verbaler Merkfähigkeitstest (VVM)*. Frankfurt am Main: Swets & Zeitlinger, B. V.
- Schmidt, H., Kern, W., Giese, R., Hallschmid, M., & Enders, A. (2009). Intranasal insulin to improve developmental delay in children with 22q13 deletion syndrome: an exploratory clinical trial. *Journal of Medical Genetics*, 46(4), 217–222. <https://doi.org/10.1136/jmg.2008.062141>
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Jr, Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6778), 661–671. <https://doi.org/10.1038/35007534>
- Shemesh, E., Rudich, A., Harman-Boehm, I., & Cukierman-Yaffe, T. (2012). Effect of intranasal insulin on cognitive function: a systematic review. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(2), 366–376. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-1802>
- Shi, H., & Clegg, D. J. (2009). Sex differences in the regulation of body weight. *Physiology & Behavior*, 97(2), 199–204. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.017>
- Shi, H., Seeley, R. J., & Clegg, D. J. (2009). Sexual differences in the control of energy homeostasis. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 30(3), 396–404. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.03.004>
- Silva, N., Atlantis, E., & Ismail, K. (2012). A review of the association between depression and insulin resistance: pitfalls of secondary analyses or a promising new approach to prevention of type 2 diabetes?. *Current Psychiatry Reports*, 14(1), 8–14. <https://doi.org/10.1007/s11920-011-0245-8>
- Spetter, M. S., & Hallschmid, M. (2015). Intranasal Neuropeptide Administration To Target the Human Brain in Health and Disease. *Molecular Pharmaceutics*, 12(8), 2767–2780. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.5b00047>
- Spinelli, M., Fusco, S., & Grassi, C. (2019). Brain Insulin Resistance and Hippocampal Plasticity: Mechanisms and Biomarkers of Cognitive Decline. *Frontiers in Neuroscience*, 13, 788. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00788>

- Stern, S. A., Chen, D. Y., & Alberini, C. M. (2014). The effect of insulin and insulin-like growth factors on hippocampus- and amygdala-dependent long-term memory formation. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 21(10), 556–563. <https://doi.org/10.1101/lm.029348.112>
- Stockhorst, U., & Antov, M. I. (2016). Modulation of Fear Extinction by Stress, Stress Hormones and Estradiol: A Review. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9, 359. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00359>
- Stockhorst, U., de Fries, D., Steingrueber, H. J., & Scherbaum, W. A. (2004). Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiology & Behavior*, 83(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.07.022>
- Stockhorst, U., de Fries, D., Steingrueber, H. J., & Scherbaum, W. A. (2011a). Unconditioned and conditioned effects of intranasally administered insulin vs placebo in healthy men: a randomised controlled trial. *Diabetologia*, 54(6), 1502–1506. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2111-y>
- Stockhorst, U., Huenig, A., Ziegler, D., Scherbaum, W. A. (2011b). Unconditioned and conditioned effects of intravenous insulin and glucose on measures of heart rate variability in healthy men. *Physiology & Behavior*, 103, 31–38. doi:10.1016/j.physbeh.2011.01.014
- Stockhorst, U., Steingrueber, H.J. & Scherbaum, W. A. (2000). Classically conditioned responses following repeated insulin and glucose administration in humans. *Behavioural Brain Research*, 110(1-2), 143–159. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(99\)00192-8](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(99)00192-8)
- Storlien, L. H., Bellingham, W. P., & Martin, G. M. (1975). Localization of CNS glucoregulatory insulin receptors within the ventromedial hypothalamus. *Brain Research*, 96(1), 156–160. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(75\)90590-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(75)90590-9)
- Strachan M. W. (2005). Insulin and cognitive function in humans: experimental data and therapeutic considerations. *Biochemical Society Transactions*, 33(Pt 5), 1037–1040. <https://doi.org/10.1042/BST20051037>
- Sundström Poromaa, I., & Gingnell, M. (2014). Menstrual cycle influence on cognitive function and emotion processing-from a reproductive perspective. *Frontiers in Neuroscience*, 8, 380. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00380>
- Talbot, K., & Wang, H. Y. (2014). The nature, significance, and glucagon-like peptide-1 analog treatment of brain insulin resistance in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association*, 10(1 Suppl), S12–S25. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.12.007>
- Thorne, R. G., Emory, C. R., Ala, T. A., & Frey, W. H., 2nd (1995). Quantitative analysis of the olfactory pathway for drug delivery to the brain. *Brain Research*, 692(1-2), 278–282. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00637-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00637-6)
- van Houten, M., Posner, B. I., Kopriwa, B. M., & Brawer, J. R. (1980). Insulin binding sites localized to nerve terminals in rat median eminence and arcuate nucleus. *Science (New York, N.Y.)*, 207(4435), 1081–1083. <https://doi.org/10.1126/science.6986652>
- Wang, Y., Aun, R., & Tse, F. L. (1998). Brain uptake of dihydroergotamine after intravenous and nasal administration in the rat. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, 19(9), 571–575. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-081x\(199812\)19:9<571:aid-bdd142>3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-081x(199812)19:9<571:aid-bdd142>3.0.co;2-o)
- Watson, G. S., Peskind, E. R., Asthana, S., Purganan, K., Wait, C., Chapman, D., Schwartz, M. W., Plymate, S., & Craft, S. (2003). Insulin increases CSF Abeta42 levels in normal older adults. *Neurology*, 60(12), 1899–1903. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000065916.25128.25>
- WHO-fact sheet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>; Stand 21.09.2020
- Willette A. (2016). Does metabolic syndrome impact cognition and emotion in Alzheimer's disease?. *European Journal of Neurology*, 23(2), 237–238. <https://doi.org/10.1111/ene.12879>

- Woods, S. C., Gotoh, K., & Clegg, D. J. (2003). Gender differences in the control of energy homeostasis. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 228(10), 1175–1180. <https://doi.org/10.1177/153537020322801012>
- Woods, S. C., Porte, D., Jr, Bobbioni, E., Ionescu, E., Sauter, J. F., Rohner-Jeanrenaud, F., & Jeanrenaud, B. (1985). Insulin: its relationship to the central nervous system and to the control of food intake and body weight. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 42(5 Suppl), 1063–1071. <https://doi.org/10.1093/ajcn/42.5.1063>
- Zhao, W. Q., Chen, H., Quon, M. J., & Alkon, D. L. (2004). Insulin and the insulin receptor in experimental models of learning and memory. *European Journal of Pharmacology*, 490(1-3), 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.02.045>
- Zhao, W. Q., & Alkon, D. L. (2001). Role of insulin and insulin receptor in learning and memory. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 177(1-2), 125–134. [https://doi.org/10.1016/s0303-7207\(01\)00455-5](https://doi.org/10.1016/s0303-7207(01)00455-5)
- Zwanenburg, R. J., Bocca, G., Ruiter, S. A., Dillingh, J. H., Flapper, B. C., van den Heuvel, E. R., & van Ravenswaaij-Arts, C. M. (2016). Is there an effect of intranasal insulin on development and behaviour in Phelan-McDermid syndrome? A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 24(12), 1696–1701. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.109>

# Anhang: Versuchsunterlagen

## Anhangsverzeichnis

A 01	Probandeninformation zur Studie „Insulin im ZNS“ (Gesamtprojekt DFG STO 323/1-2) .....	A2
A 02	Allgemeine Übersicht Längsschnitterhebung .....	A7
A 03	Einverständniserklärung Männer.....	A9
A 04	Einverständniserklärung Frauen .....	A12
A 05	Standardisierte Anleitung Nasenspray .....	A15
A 06	Laborsitzung .....	A19
A 06.1	Protokollbogen .....	A20
A 06.2	Geruchsbewertung .....	A21
A 06.3	Geruchsbenennung.....	A22
A 06.4	Symptombogen Labor .....	A23
A 06.5	EWL 60-S.....	A24
A 06.6	Protokollbogen zur Messung des Blutzuckerspiegels .....	A28
A 06.7	Protokollbogen zur Messung der peripheren Hormone (Insulin, Leptin, Östradiol).....	A29
A 06.8	Instruktion Testmahlzeit.....	A30
A 07	Erfassung zu Hause.....	A31
A 07.1	Dokumentation Sprühroutine .....	A32
A 07.2	Anleitung Blutzuckerselbstmessung .....	A33
A 07.3	Dokumentation Blutzucker.....	A40
A 07.4	Symptombogen zu Hause .....	A44
A 07.5	Ernährungsprotokoll .....	A45
A 07.6	Schlafprotokoll.....	A49
A 07.7	Aktivitätsprotokoll .....	A50
A 07.8	Zykluskalender .....	A54

A 01 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 Labortermine etwa 80 ml entnommen. Weiterhin werden wir Sie bitten, während der jeweiligen Untersuchung zu definierten Zeitpunkten, bestimmte Aufgaben zur Prüfung des Gedächtnisses und der Aufmerksamkeit zu lösen. Darüber hinaus werden wir Ihnen - ebenfalls zu definierten Zeitpunkten - Symptomlisten und Befindlichkeitsbogen vorlegen. Außerdem zeichnen wir insgesamt dreimal während des Gesamtversuchs die Aktivität des Gehirns mittels EEG-Ableitung auf: Dabei wird Ihnen eine bestimmte Aufgabe vorgegeben. Sie sollen Töne einer bestimmten Frequenz aus einer großen Anzahl von Tönen herausfinden und das Erkennen durch Betätigung einer Taste mitteilen.

Dazu werden Ihnen Elektroden angelegt, die mit einer Elektrodenpaste befestigt werden. Auch heute führen wir schon eine erste EEG-Aufzeichnung durch.

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. Das ist wichtig, da sonst die EEG-Daten schlecht zu verwerten sind.

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.

### *Abschnitt 2: Längsschnittstudie*

Nach der Laborstudie wird eine Längsschnittstudie über 8 Wochen und eine Nacherhebungszeit über 8 Wochen stattfinden. In diesem zweiten Teil der Studie sollen die Langzeitwirkungen von intranasal verabreichtem Insulin bzw. der Trägersubstanz geprüft werden. Sie sollen sich selber *dreimal täglich* (im Zeitraum von 5 bis 15 Minuten vor Beginn der drei Hauptmahlzeiten) das Nasenspray (intranasales Insulin oder nur die Trägersubstanz) verabreichen. Die Zuteilung (Insulin oder nur Trägersubstanz) erfolgt wieder per Zufall und wird ihnen nicht mitgeteilt. Sie werden gebeten, zu den Zeitpunkten der Verabreichung auch wieder Befindlichkeitsbogen auszufüllen, täglich Ihren Blutzucker mit einem Blutzuckerschnellmessgerät zu messen und zu gegebenen Zeitpunkten ein 3-Tage Ernährungsprotokoll und ein Schlaftagebuch zu führen sowie eine Aktivitätsaufzeichnung vorzunehmen.

In den ersten 8 Wochen findet einmal pro Woche ein ca. 1-stündiger Termin im Labor statt, jeweils vormittags (im Zeitraum zwischen 7.45 und 13 Uhr). Dort erfolgt eine einmalige Blutabnahme, Gewichtsmessung, Gedächtnistestung und Befindlichkeitsmessung. Sie erhalten außerdem die neue - und für Sie berechnete - Menge der intranasalen Substanz (Nasensprayflasche) für die Folgeweche.

Außerdem bitten wir Sie, zu verschiedenen Zeitpunkten eine Urinprobe zur Kontrolle mitzubringen.

Zu zwei Terminen erfolgt auch eine Analyse der Knochendichte und Körperzusammensetzung mittels einer röntgenologischen Methode (sog. DEXA-Scan = dual energy x-ray absorptiometry). Die auftretende Strahlenbelastung ist gering: sie beinhaltet etwa 1/50 der Belastung einer häufigen Röntgenuntersuchung (wie der Thoraxuntersuchung) oder der Strahlenbelastung die Menschen erleben, wenn Sie 1 Jahr in der Höhe (Alpen) leben. Die Untersuchung erfordert keine Schutzmaßnahmen.

Auch in den 8 Wochen der Nacherhebung (Woche 9 bis 16) werden Sie zweimal in das Labor zwecks Messungen und einer Blutabnahme gebeten (Dauer jeweils ca. 1 Stunde). Weiterhin wird Ihnen nach dem Zufallsprinzip gegebenenfalls einmal pro Woche wieder eine neue Nasensprayflasche ausgehändigt, und Sie werden gebeten, auch in den weiteren 8 Wochen das Spray zu verabreichen.

### 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.

## A 02 Allgemeine Übersicht Längsschnitterhebung

## Allgemeine Übersicht über Teil 2 der Studie 'Intranasales Insulin bei Gesunden' - Längsschnittstudie

### Lieber Versuchsteilnehmer, liebe Versuchsteilnehmerin:

Vor Weiterführung der Studie möchten wir Ihnen noch mal eine kurze Übersicht über den Ablauf der Längsschnittphase unserer Untersuchung geben und die verschiedenen Aufgaben beschreiben, die in dieser Zeit zu bearbeiten sind.

### Labortermine:

- Wie vereinbart, werden Sie in den ersten 9 Wochen der Studie einmal wöchentlich einen **Labortermine** (Dauer ca. 1 Stunde) erhalten. Danach gibt es noch mal in Woche 12 und Woche 16 einen Labortermine. All diese Termine finden wie immer statt im Deutschen Diabetes Zentrum.
- **Die Labortermine sind für Sie persönlich immer..... um .....Uhr.**
- Hinzu kommen drei Termine in der MNR-Klinik zur Messung des sog. Dexa-Scans (s. Probandeninformation).

Innerhalb dieser Labortermine erfolgt ein standardisierter, d.h. für jede(n) Probandin/Probanden identischer Versuchsablauf, wie Sie es schon aus der Akutstudie kennen.

### Aufgaben zuhause:

Hinzu kommt in der Längsschnittstudie, dass Sie zuhause wichtige Aufgaben erfüllen sollen, die keinen großen Zeitaufwand beinhalten, aber extrem sorgfältig und ebenso standardisiert durchgeführt werden müssen. D. h. für die Verwertbarkeit Ihrer Daten und den Erhalt des kompletten Versuchspersonengeldes ist es unerlässlich, dass Sie auch die zuhause anfallenden Aufgaben ebenso standardisiert erfüllen wie an den Labortermine.

Deshalb haben wir zu all' Ihren Aufgaben sog. Instruktionen und Erklärungen vorbereitet.

Diese betreffen:

- eine sog. Sprühinstruktion, die Ihnen die Verabreichung des Nasensprays erklärt
- eine Anleitung zur Bedienung des Blutzuckermessgeräts

Sie erhalten in jeder Woche

- 2 Flaschen, die das Nasenspray enthalten,
- je einen Protokollbogen zu den täglichen Messwerten des Blutzuckers und Dokumentation der Sprühroutine,
- täglich einen Symptombogen
- zudem werden Sie fünfmal insgesamt gebeten, über jeweils drei Tage, weitere Protokollierungen vorzunehmen.

Eine Kontrolle der sorgfältigen Anwendung der Messinstrumente und des Nasensprays erfolgt in jeder wöchentlichen Sitzung, u.a. durch Blutentnahmen und vereinzelt Urinproben.

Falls Sie zwischenzeitlich Fragen haben, wenden Sie sich bitte an:

Dipl.-Psych, Maren Blicke (0211-81-13319 oder [maren.blicke@uni-duesseldorf.de](mailto:maren.blicke@uni-duesseldorf.de)) oder Magdalena Khamis ([magdalena.k@hotmail.de](mailto:magdalena.k@hotmail.de))

## A 03 Einverständniserklärung Männer

## **EINVERSTÄNDISERKLÄRUNG**

Ich ,....., wurde über den Ablauf der Untersuchung 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' schriftlich und persönlich durch den/die Versuchsleiter(in) aufgeklärt.

Ich weiß, dass die Studie unter ärztlicher Kontrolle verläuft und bin über Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt worden. Eine Probandenversicherung wurde abgeschlossen. Ich bin darüber informiert worden, dass ich vor meiner Teilnahme dem/der Versuchsleiter(in) alle momentan stattfindenden ärztlichen und zahnärztlichen Behandlungen - insbesondere auch die Einnahme von Medikamenten - und alle diagnostischen Maßnahmen (auch Impfungen, Blutspenden, Arzneimitteleinnahmen, Diätauflagen, psychotherapeutische Behandlung), die Auswirkungen auf meinen jetzigen Zustand haben könnten, mitteilen muss. Soweit mir bekannt ist, leide ich momentan unter keiner Krankheit.

Ich weiß, dass ich bestimmte Verhaltensregeln während des Untersuchungszeitraums befolgen muss, nämlich:

### *Für die Akutstudie:*

Nüchternzustand (12-stündige Fastenperiode) und keine körperliche Aktivität am Morgen eines jeweiligen Versuchstermins. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen und auch keinen Alkohol trinken darf.

### *In der Längsschnittstudie:*

Einhaltung der Dosisvorschriften, Führen von Protokollbogen und 12-stündige Fastenperiode vor den wöchentlichen Laboruntersuchungen und kein Alkohol am Vortag einer jeweiligen Laboruntersuchung. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen darf.

Ich bin darüber informiert, dass meine persönlichen Daten beim Leiter der Studie verbleiben, so dass sich für Dritte keine Hinweise auf meine Identität ergeben.

Ich weiß, dass ich von dieser Erklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen zurücktreten kann.

Ich erkläre mich hiermit freiwillig und unter Umständen, die meine freie Entscheidung nicht beeinträchtigen, bereit, an der Studie 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' teilzunehmen.

Die Studienbedingungen habe ich nach Aufklärung verstanden.

Düsseldorf, den.....

Unterschrift des Probanden.....

*Einverständniserklärung zum Verbleib beim Studienleiter*

## **EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG**

Ich ,....., wurde über den Ablauf der Untersuchung 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' schriftlich und persönlich durch den/die Versuchsleiter(in) aufgeklärt.

Ich weiß, dass die Studie unter ärztlicher Kontrolle verläuft und bin über Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt worden. Eine Probandenversicherung wurde abgeschlossen. Ich bin darüber informiert worden, dass ich vor meiner Teilnahme dem/der Versuchsleiter(in) alle momentan stattfindenden ärztlichen und zahnärztlichen Behandlungen - insbesondere auch die Einnahme von Medikamenten - und alle diagnostischen Maßnahmen (auch Impfungen, Blutspenden, Arzneimitteleinnahmen, Diätauflagen, psychotherapeutische Behandlung), die Auswirkungen auf meinen jetzigen Zustand haben könnten, mitteilen muss. Soweit mir bekannt ist, leide ich momentan unter keiner Krankheit.

Ich weiß, dass ich bestimmte Verhaltensregeln während des Untersuchungszeitraums befolgen muss, nämlich:

### *Für die Akutstudie:*

Nüchternzustand (12-stündige Fastenperiode) und keine körperliche Aktivität am Morgen eines jeweiligen Versuchstermins. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen und auch keinen Alkohol trinken darf.

### *In der Längsschnittstudie:*

Einhaltung der Dosisvorschriften, Führen von Protokollbogen und 12-stündige Fastenperiode vor den wöchentlichen Laboruntersuchungen und kein Alkohol am Vortag einer jeweiligen Laboruntersuchung. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen darf.

Ich bin darüber informiert, dass meine persönlichen Daten beim Leiter der Studie verbleiben, so dass sich für Dritte keine Hinweise auf meine Identität ergeben.

Ich weiß, dass ich von dieser Erklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen zurücktreten kann.

Ich erkläre mich hiermit freiwillig und unter Umständen, die meine freie Entscheidung nicht beeinträchtigen, bereit, an der Studie 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' teilzunehmen.

Die Studienbedingungen habe ich nach Aufklärung verstanden.

Düsseldorf, den.....

Unterschrift des Probanden.....

*Einverständniserklärung zum Verbleib beim Versuchsteilnehmer*

## A 04 Einverständniserklärung Frauen

## **EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG**

Ich ,....., wurde über den Ablauf der Untersuchung 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' schriftlich und persönlich durch den/die Versuchsleiter(in) aufgeklärt.

Ich weiß, dass die Studie unter ärztlicher Kontrolle verläuft und bin über Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt worden. Eine Probandenversicherung wurde abgeschlossen. Ich bin darüber informiert worden, dass ich vor meiner Teilnahme dem/der Versuchsleiter(in) alle momentan stattfindenden ärztlichen und zahnärztlichen Behandlungen - insbesondere auch die Einnahme von Medikamenten - und alle diagnostischen Maßnahmen (auch Impfungen, Blutspenden, Arzneimittleinnahmen, Diätaufgaben, psychotherapeutische Behandlung), die Auswirkungen auf meinen jetzigen Zustand haben könnten, mitteilen muss. Soweit mir bekannt ist, leide ich momentan unter keiner Krankheit. Ich bin zur Zeit nicht schwanger. Über eine eventuelle Schwangerschaft werde ich umgehend informieren.

Ich weiß, dass ich bestimmte Verhaltensregeln während des Untersuchungszeitraums befolgen muss, nämlich:

### *Für die Akutstudie:*

Nüchternzustand (12-stündige Fastenperiode) und keine körperliche Aktivität am Morgen eines jeweiligen Versuchstermins. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen und auch keinen Alkohol trinken darf.

### *In der Längsschnittstudie:*

Einhaltung der Dosisvorschriften, Führen von Protokollbogen und 12-stündige Fastenperiode vor den wöchentlichen Laboruntersuchungen und kein Alkohol am Vortag einer jeweiligen Laboruntersuchung. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen darf.

Ich bin darüber informiert, dass meine persönlichen Daten beim Leiter der Studie verbleiben, so dass sich für Dritte keine Hinweise auf meine Identität ergeben.

Ich weiß, dass ich von dieser Erklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen zurücktreten kann.

Ich erkläre mich hiermit freiwillig und unter Umständen, die meine freie Entscheidung nicht beeinträchtigen, bereit, an der Studie 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' teilzunehmen.

Die Studienbedingungen habe ich nach Aufklärung verstanden.

Düsseldorf, den.....

Unterschrift der Probandin.....

*Einverständniserklärung zum Verbleib beim Studienleiter*

## **EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG**

Ich ,....., wurde über den Ablauf der Untersuchung 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' schriftlich und persönlich durch den/die Versuchsleiter(in) aufgeklärt.

Ich weiß, dass die Studie unter ärztlicher Kontrolle verläuft und bin über Risiken und Nebenwirkungen aufgeklärt worden. Eine Probandenversicherung wurde abgeschlossen. Ich bin darüber informiert worden, dass ich vor meiner Teilnahme dem/der Versuchsleiter(in) alle momentan stattfindenden ärztlichen und zahnärztlichen Behandlungen - insbesondere auch die Einnahme von Medikamenten - und alle diagnostischen Maßnahmen (auch Impfungen, Blutspenden, Arzneimittleinnahmen, Diätaufgaben, psychotherapeutische Behandlung), die Auswirkungen auf meinen jetzigen Zustand haben könnten, mitteilen muss. Soweit mir bekannt ist, leide ich momentan unter keiner Krankheit. Ich bin zur Zeit nicht schwanger. Über eine eventuelle Schwangerschaft werde ich umgehend informieren.

Ich weiß, dass ich bestimmte Verhaltensregeln während des Untersuchungszeitraums befolgen muss, nämlich:

### *Für die Akutstudie:*

Nüchternzustand (12-stündige Fastenperiode) und keine körperliche Aktivität am Morgen eines jeweiligen Versuchstermins. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen und auch keinen Alkohol trinken darf.

### *In der Längsschnittstudie:*

Einhaltung der Dosisvorschriften, Führen von Protokollbogen und 12-stündige Fastenperiode vor den wöchentlichen Laboruntersuchungen und kein Alkohol am Vortag einer jeweiligen Laboruntersuchung. Ich bin darüber informiert, dass ich keine Medikamente während der Versuchsphase einnehmen darf.

Ich bin darüber informiert, dass meine persönlichen Daten beim Leiter der Studie verbleiben, so dass sich für Dritte keine Hinweise auf meine Identität ergeben.

Ich weiß, dass ich von dieser Erklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen zurücktreten kann.

Ich erkläre mich hiermit freiwillig und unter Umständen, die meine freie Entscheidung nicht beeinträchtigen, bereit, an der Studie 'Intranasale Insulingabe bei Gesunden' teilzunehmen.

Die Studienbedingungen habe ich nach Aufklärung verstanden.

Düsseldorf, den.....

Unterschrift der Probandin.....

*Einverständniserklärung zum Verbleib bei der Versuchsteilnehmerin*

## Sprühinstruktion

Liebe(r) Studienteilnehmer(in)!

Um zu gewährleisten, dass das Insulin oder nur die Trägersubstanz (Placebo) von allen Probanden vergleichbar verabreicht wird, haben wir für Sie eine genaue Anleitung zusammengestellt, die Sie bitte bei der Anwendung des Nasensprays beachten.



Bitte zuerst die **Kappe** der Düse **entfernen**.

Bitte betätigen Sie die Sprühdüse mit Ihrer **dominanten** Hand (bei den meisten die rechte Hand).



Bitte legen Sie Ihren Zeigefinger der dominanten Hand auf die rechte Seitenfläche der Sprühdüse und Ihren Mittelfinger auf die linke Seitenfläche. Halten Sie die Flasche dabei zunächst senkrecht.

Verwerfen Sie vor jedem Sprühen einen Sprühstoß (Hub) und überprüfen dabei, dass ein gleichmäßiger Strahl austritt. Falls Sie mehr als einen Hubvorgang verwerfen müssen, vermerken Sie dies bitte auf dem Protokollbogen unter Besonderheiten.

Auf der Sprühdüse ist eine **schwarze Kerbe** eingezeichnet.

\* Als Bild dargestellt, Genehmigung zur Veröffentlichung liegt nicht vor

Diese Kerbe muss genau auf die **Na-senscheidewand** gerichtet sein.

Nun legen Sie bitte Ihren Kopf nach hinten in den Nacken (etwa im 45 Grad Winkel).

\* Als Bild dargestellt, Genehmigung zur Veröffentlichung liegt nicht vor

Bitte führen Sie dann die Düse so weit es geht in die Nase ein, so dass Sie mit Ihren Fingern an die Nasenöffnungen stoßen.

Betätigen Sie dann die Düse mit gleichmäßigem Druck. Die Finger sollen Kontakt mit der Nase haben.

\* Als Bilder dargestellt, Genehmigung zur Veröffentlichung liegt nicht vor

Sprühen Sie dann zuerst in das linke und danach in das rechte Nasenloch je einen Hub.

## A 06 Laborsitzung

A 06.1 Protokollbogen

<b>PROTOKOLLBOGEN LÄNGSSCHNITT (LABORTERMIN)</b>			
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 Blutentnahme:			
Nasenspray-Abfolge (re,li) :			
Gedächtnistest:      Version:                      Untertest:			
Gewicht Nasensprayflasche alt:		Flasche 1:	Flasche 2:
Gewicht Nasensprayflasche neu:		Flasche 1:	Flasche 2:
Blutdruck: Min 5 Systole:		Diastole:	Min 40 Systole:      Diastole:
Testmahlzeit :	Dauer :		
	Konsumierte Kräcker (von 30) :		
	Konsumierte Wurststücke (von 15) :		
	Konsumierte Käsestücke (von 15) :		
	Mineralwasser (von 0.7 l) :		
an EEG-Tagen:			
Strecke Nasion-Inion:		Strecke Transversal:	

---

BESONDERHEITEN WÄHREND DES VERSUCHSABLAUFS



A 06.3 Geruchsbenennung

<i>GERUCHSBENENNUNG</i>	
VP-NR.:	.....
DATUM:	.....
VL:	.....

Bitte geben Sie abschließend an, ob Sie den Geruch des Nasensprays identifizieren konnten:

**nein**

**ja**  
Falls ja: Benennung des Geruchs:

---

---

A 06.4 Symptombogen Labor

SEBB-LÄNGSSCHNITT					
DATUM:					
Vp-Kenn-Nr.	:	VL	:		
Messung	:	Uhr	:		
Alter	:	Geschlecht	:		
Gewicht(kg)	:	Körpergröße (in cm)	:		

Wie stark sind die nachfolgend angegebenen Empfindungen bei Ihnen vorhanden - **und zwar in diesem Augenblick?**

Sie können zwischen **fünf** verschiedenen Empfindungsstärken wählen, die von **'gar nicht'** vorhanden (Stufe 0) **bis 'außerordentlich'** vorhanden (Stufe 4) reichen.

Bitte kreuzen Sie für **jede** der folgenden Empfindungen die entsprechende Stufe an!

	gar nicht	kaum	mittel-	ziemlich mäßig	außer-	ordentlich
Kopfschmerzen	0	1	2	3	4	
Herzklopfen	0	1	2	3	4	
Harndrang	0	1	2	3	4	
Durst	0	1	2	3	4	
Hunger	0	1	2	3	4	
Schwäche	0	1	2	3	4	
Schwitzen	0	1	2	3	4	
Müdigkeit	0	1	2	3	4	
Schwindel	0	1	2	3	4	
Reizbarkeit	0	1	2	3	4	
Unkonzentriertheit	0	1	2	3	4	
Angst	0	1	2	3	4	
Nervosität	0	1	2	3	4	
Zittern	0	1	2	3	4	
verschwommenes Sehen	0	1	2	3	4	
Übelkeit	0	1	2	3	4	
Speichelfluß	0	1	2	3	4	
Atembeschwerden	0	1	2	3	4	
Kribbeln an den Lippen	0	1	2	3	4	
Sättigungsgefühl	0	1	2	3	4	

Sonstige Empfindungen oder Beschwerden:

.....

.....

A 06.5 EWL 60-S

Name: \_\_\_\_\_ Vorname: \_\_\_\_\_ Geschlecht: \_\_\_\_\_  
Alter: \_\_\_\_\_ Datum: \_\_\_\_\_ Uhrzeit: \_\_\_\_\_

Eigenschaftswörterliste (EWL 60-S)

Dies ist eine Liste von Wörtern, mit denen man beschreiben kann, wie man sich augenblicklich fühlt.

Gehen Sie alle Wörter der Liste nacheinander durch, und entscheiden Sie sofort bei jedem Wort, in welchem Ausmaß es Ihrem augenblicklichen Befinden entspricht.

Machen Sie bitte ein Kreuz in den Kreis, der Ihrem augenblicklichen Befinden entspricht.

Sie haben vier Möglichkeiten, zwischen denen Sie sich bei jedem Wort entscheiden sollen.

Entspricht ein Wort zum Beispiel Ihrem augenblicklichen Befinden "gar nicht", so machen Sie bitte - wie unten - ein Kreuz in den Kreis hinter "gar nicht".

gar nicht  etwas  ziemlich  stark

Es ist wichtig, daß Sie folgende Punkte beachten:

1. Antworten Sie nur danach, wie Sie sich augenblicklich fühlen!
2. Entscheiden Sie sich sofort, möglichst schnell, bei jedem Wort!
3. Fällt die Antwort schwer, so entscheiden Sie sich für die Antwortmöglichkeit, die am ehesten zutreffen könnte!
4. Lassen Sie kein Wort aus!

Bitte blättern Sie um!

Copyright 1983: W. Janke (Univ. Würzburg) und G. Debus (RWTH Aachen).  
Benutzung und Vervielfältigung nur mit schriftlicher Einwilligung  
der Autoren.

1	ängstlich	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
2	energielos	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
3	lustig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
4	benebelt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
5	menschenscheu	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
6	selbstsicher	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
7	betrübt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
8	lasch	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
9	zutraulich	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
10	energisch	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
11	gereizt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
12	erregt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
13	dösig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
14	empfindlich	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
15	wortkarg	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
16	aufmerksam	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
17	selbstzufrieden	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
18	träumerisch	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
19	ärgerlich	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
20	elend	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>

Bitte blättern Sie um!

21	zermürbt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
22	erregbar	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
23	aktiv	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
24	bekommen	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
25	heiter	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
26	schläfrig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
27	konzentriert	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
28	verärgert	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
29	versonnen	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
30	unbekümmert	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
31	zappelig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
32	gesprächig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
33	traurig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
34	lahm	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
35	freudig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
36	verträumt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
37	benommen	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
38	angsterfüllt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
39	beständig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
40	abgesondert	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>

Bitte blättern Sie um!

41	eifrig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
42	gedankenverloren	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
43	nervös	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
44	kraftlos	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
45	kontaktfreudig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
46	müde	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
47	furchtsam	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
48	ausdauernd	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
49	einsilbig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
50	sorgenvoll	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
51	verwundbar	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
52	froh	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
53	schlaftrunken	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
54	wütend	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
55	selbstbewusst	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
56	tatkräftig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
57	gesellig	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
58	aufgeregt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
59	abgespannt	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>
60	verletzbar	gar nicht <input type="radio"/>	etwas <input type="radio"/>	ziemlich <input type="radio"/>	stark <input type="radio"/>

Vielen Dank!



A 06.7 Protokollbogen zur Messung der peripheren Hormone (Insulin, Leptin, Östradiol)

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

VP-NR. :	GEB.-DATUM:	GESCHLECHT:
DATUM :		
VL :		
LABOR :		

Messzeitpunkt	t1	t2	t3	t4	t5	t6	t7
<b>Insulin (mU/L)</b>	Ins1	Ins2	Ins3	Ins4	Ins5	Ins6	Ins7
E5hvxx							

<b>Leptin (ng/ml)</b>	Lep1	Lep2	Lep3	Lep4	Lep5	Lep6	Lep7
E5hvxx							

<b>Cortisol (µg/dl)</b>	Cort1	Cort2	Cort3	Cort4	Cort5	Cort6	Cort7
E5hvxx							

<b>Estradiol (pg/ml)</b>	Est1	Est2	Est3	Est4	Est5	Est6	Est7
E5hvxx							

A 06.8 Instruktion 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.**

## A 07 Erfassung zu Hause

## A 07.1 Dokumentation Sprühroutine

### Liebe(r) Studienteilnehmer(in),

bitte dokumentieren Sie auf diesem Bogen die Einnahme des Nasensprays.

Dazu bitten wir Sie, das **jeweilige Datum einzutragen und die genaue Uhrzeit anzugeben, zu der Sie das Nasenspray** (vor dem Frühstück, dem Mittagessen oder dem Abendessen) angewendet haben.

Sie sollen sich **das Nasenspray jeweils im Zeitraum 15 bis 5 Minuten vor Beginn einer jeweiligen Hauptmahlzeit** (Frühstück = Mahlzeit 1 = Uhrzeit 1), Mittagessen (Mahlzeit 2 = Uhrzeit 2) und Abendessen (Mahlzeit 3 = Uhrzeit 3) verabreichen.

Sie werden außerdem gebeten, anzugeben, ob **Besonderheiten bei den Mahlzeiten** zu Uhrzeit 1, 2 oder 3 auftraten. Das bedeutet, Sie sollen angeben, wenn Ihre Hauptmahlzeit keine 'echte' Hauptmahlzeit war, das Frühstück z. B. also ausnahmsweise nur aus Kaffee bestand. Dennoch sollen Sie diesen Zeitpunkt als Ihre Hauptmahlzeit betrachten und das Nasenspray einnehmen, denn es müssen pro Tag drei Einnahmen erfolgen, und zwar zu den 'üblichen' Zeiten der Hauptmahlzeiten.

Am Ende jeden Tages sollen Sie zudem eine Abschätzung abzugeben, wie **viele Stunden Ihrer Gesamttätigkeit Sie mit sitzender, liegender Tätigkeit im Vergleich zu körperlich aktiver Tätigkeit** (laufen, körperlich arbeiten, tanzen, sportlicher Aktivität etc.) **verbracht haben**. Dabei gelten nur die Stunden des Wachseins. Wenn Sie also 16 Stunden auf waren (z. B. von 7 Uhr bis 23 Uhr), und dabei 9 Stunden in der Uni waren, davon 5 Stunden Vorlesung hatten, 4 Stunden mit Tätigkeiten wie Stehen im Praktikum, gehen zur Mensa, Weg zur Straßenbahn beschäftigt waren) und in den restlichen 7 Stunden 4 Stunden am Schreibtisch saßen und sich 3 Stunden bewegt haben, geben Sie an: 9 Stunden (sitzende, liegende) zu 7 Stunden (körperlich aktiv).

### Dokumentation der Sprühroutine

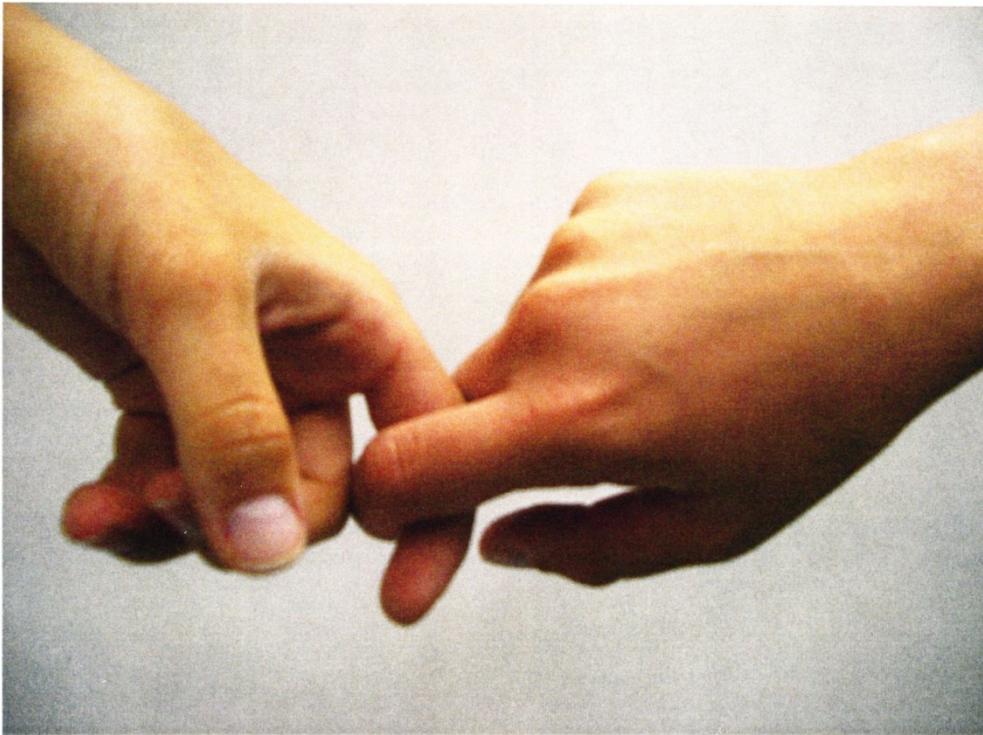
Vp-Nr.: .....  
 Geburtsdatum: .....  
 Geschlecht: .....

Woche: **1**

Datum	Uhrzeit 1	Besonder- heiten beim Sprühen	Besonder- heiten Mahlzeit	Uhrzeit 2	Besonder- heiten beim Sprühen	Besonder- heiten Mahlzeit	Uhrzeit 3	Besonder- heiten beim Sprühen	Besonder- heiten Mahlzeit	Heutiges Bewegungsverhalten (Stunden sitzende, liegende zu körperlich aktiver Zeit) GESAMT

Uhrzeit 1 = Sprühzeitpunkt vor der ersten größeren Nahrungsaufnahme (Frühstück)  
 Uhrzeit 2 = Sprühzeitpunkt vor der zweiten größeren Nahrungsaufnahme (Mittag)  
 Uhrzeit 3 = Sprühzeitpunkt vor der dritten größeren Nahrungsaufnahme (Abendessen)

## A 07.2 Anleitung Blutzuckerselbstmessung



Liebe(r) Studienteilnehmer(in),

um eine möglichst umfassende Datenerhebung der Längsschnittstudie zu gewährleisten, bitten wir Sie, täglich einmal Ihren Blutzucker selbst zu messen und zwar mit dem Blutzuckerschnellmessgerät „Accu-Chek Aviva“ und dem „Accu-Chek Multiclix“. Um Ihnen diese Blutzuckermessung so einfach wie möglich zu gestalten, haben wir für Sie eine Anleitung zusammengestellt, in der Sie die wichtigsten Schritte und Tipps zur Bedienung der Geräte finden.

Diese Broschüre enthält folgendes:

- Beschreibung des Akku-Chek Multiclix
- Bedienung des Akku-Chek Multiclix
- Bedienung des Akku-Chek Aviva
- Allgemeine Hinweise zur Blutzuckermessung
- Fehlerquellen und ihre Behebung

Zur Messung des Blutzuckers benötigen Sie folgendes:

- Ein Gerät zur Gewinnung des „Blutropfens“ und zwar den sogenannten Accu-Chek Multiclix und Zubehör (= Lanzettentrommel mit 6 Lanzetten).
- Ein Gerät zur Blutzuckermessung, das sogenannte Accu-Chek Aviva Blutzuckermessgerät und Zubehör (Teststreifen und Code Chip).

Sowohl die gerade erwähnten Geräte als auch die einzelnen Schritte zu einer schmerzfreien Blutgewinnung werden im folgenden genau beschrieben.

**Beschreibung des Accu-Chek Multiclix:**



Kappe: Diese nehmen Sie ab, wenn Sie die Lanzettentrommel wechseln möchten und setzen Sie anschließend wieder auf.



Lanzettentrommel: In ihr befinden sich 6 Lanzetten



Auslöseknopf



Spannknopf

## Bedienung des Accu-Chek Softclix und des Accu-Chek Aviva zur Blutzuckermessung



Wenn Sie Ihr Blutzuckermessgerät von Ihrer Versuchsleiterin erhalten, ist die Lanzettentrommel mit 6 Lanzetten bereits eingesetzt. In der Anzeige für Reserve-Lanzetten sehen Sie fünf weiße Balken. Sie haben also noch fünf neue Lanzetten übrig.



Waschen Sie nun zuerst Ihre Hände und trocknen Sie diese gut ab. Nehmen Sie das Blutzuckermessgerät und führen den Teststreifen in die dafür vorgesehene Öffnung ein.



Drücken Sie den Spannkopf am oberen Ende von Accu-Chek Multiclix bis zum Anschlag (wie bei einem Kugelschreiber).



Accu-Chek Multiclix ist gespannt, wenn die Mitte des Auslöseknopfes gelb ist.



Setzen Sie das Gerät mit leichtem Druck an die gewünschte Einstichstelle und drücken Sie den Auslöser. Die **optimale** Stelle für die Blutgewinnung ist die **seitliche Fingerkuppe**, etwa im Bereich der Fingernägel. Damit die Lanzette die eingestellte Tiefe auch erreichen kann, muss die Stechhilfe beim Stich unbedingt **fest** gegen die Haut **gedrückt** werden.



Berühren Sie mit dem nun vorhandenem Blutropfen den vorderen Rand der gelben Auftragezone des Teststreifens. Sobald das Sanduhrensymbold zu blinken beginnt, wurde eine ausreichende Menge Blut in den Teststreifen eingesogen. Das Gerät zeigt nun das Messergebnis an.

**Neue Lanzette einsatzbereit machen:**

- um eine neue Lanzette einsatzbereit zu machen, muss der Spannkopf gedreht werden.
- Drehen Sie dazu den Spannkopf bitte eine Viertelumdrehung bis zum Anschlag und wieder zurück.
- Sie sehen nun einen Balken weniger in der Anzeige für Reserve-Lanzetten.
- Wenn die Anzeige für Reserve-Lanzetten leer ist, haben Sie fünf Lanzetten verwendet.

**Lanzetten-Trommel auswechseln:**

- Wenn Sie die sechste Lanzette verwendet haben, muss die Lanzetten-Trommel gegen eine neue ausgewechselt werden.
- Ziehen Sie die Kappe von Accu-Chek Multiclix ab. Fassen Sie die Lanzetten-Trommel bitte mit Daumen und Zeigefinger und ziehen Sie sie heraus.
- Auf dem Zylinder werden zwei rote Streifen sichtbar. Dadurch können Sie eine gebrauchte Lanzetten-Trommel von einer neuen Lanzetten-Trommel unterscheiden.

**Lanzetten-Trommel einsetzen:**

- Ziehen Sie die Kappe von Accu-Chek Multiclix ab (sofern noch nicht geschehen).
- Drücken Sie eine neue Lanzetten-Trommel – mit dem blauen Ring voran – in Accu-Chek Multiclix.
- Die Lanzettentrommel ist richtig eingesetzt, wenn sie mit einem hörbaren Klick einrastet.
- Setzen Sie die Kappe wieder auf.

■

### Allgemeine Hinweise zur Blutzuckermessung:

Halten Sie den Multitlix immer **sauber**: Dazu sollte die blaue Gerätekappe gelegentlich mit einer Seifen- oder Desinfektionslösung von anhaftenden Blutresten gereinigt werden.

Stechen Sie nicht zweimal in dieselbe Stelle, sondern **wechseln** Sie die Hände und Finger regelmäßig ab, damit die Haut **Erholungszeit** hat.

Normalerweise schließt sich die Stichstelle sofort wieder und bedarf keiner weiteren Behandlung. Nur wenn der Stich nachblutet, kann durch **Druck** mit einem sauberen **Taschentuch** oder **Tupfer** die Blutung zum Stillstand gebracht werden.

Wenn Sie noch unsicher bei der Blutzuckermessung sind, können Sie sich jederzeit an Frau Blicke wenden, um die Unklarheiten zu beseitigen.



### Fehlerquellen und ihre Behebung

Fehlerquelle	Wirkung	Lösung
Ungewaschene Hände	Mangelnde Sterilität	Hände gut waschen
Feuchte Finger	Verdünnung der Blutprobe	Nur mit trockenen Fingern messen
Desinfektion mit Ethanol	Alkoholrückstände an Fingern haben Einfluss auf enzymatische Reaktion	Zur Reinigung der Hände keinen Alkohol benutzen
Starkes Pressen der Fingerbeere	Verdünnung der Blutprobe mit Gewebewasser	Fingerbeere nur leicht drücken, nicht quetschen
Falsche Lagerung der Teststreifen	Einfluss auf enzymatische Reaktion	Lagerung nur bei 2 bis 32 Grad
Einnahme von Medikamenten	Mögliche Verfälschung der Blutzuckerwerte durch Vitamin C, Paracetamol, Aspirin	Einnahme protokollieren

## A 07.3 Dokumentation Blutzucker

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W1**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Abends		
Tag 3		Morgens		
Tag 4		Abends		
Tag 5		Mittags		
Tag 6		Morgens		
Tag 7		Mittags		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W2**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Abends		
Tag 2		Morgens		
Tag 3		Mittags		
Tag 4		Morgens		
Tag 5		Mittags		
Tag 6		Abends		
Tag 7		Morgens		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W3**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Abends		
Tag 3		Morgens		
Tag 4		Abends		
Tag 5		Mittags		
Tag 6		Morgens		
Tag 7		Abends		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W4**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Morgens		
Tag 3		Abends		
Tag 4		Mittags		
Tag 5		Abends		
Tag 6		Morgens		
Tag 7		Mittags		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W5**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Morgens		
Tag 3		Mittags		
Tag 4		Abends		
Tag 5		Morgens		
Tag 6		Abends		
Tag 7		Morgens		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W6**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Abends		
Tag 3		Morgens		
Tag 4		Abends		
Tag 5		Morgens		
Tag 6		Mittags		
Tag 7		Abends		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W7**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Morgens		
Tag 3		Mittags		
Tag 4		Abends		
Tag 5		Morgens		
Tag 6		Abends		
Tag 7		Mittags		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

**Vp-Nr.:**

**Woche:**

**W8**

Gerät-Nr.:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Tag	Wochentag/Datum	Zeitpunkt der Messung	Genauere Uhrzeit	Ergebnis (mg/dl)
Tag 1		Mittags		
Tag 2		Morgens		
Tag 3		Mittags		
Tag 4		Abends		
Tag 5		Morgens		
Tag 6		Abends		
Tag 7		Morgens		

**Bitte messen Sie Ihren Blutzucker zu dem für den jeweiligen Wochentag angegebenen Zeitpunkt.**

Morgens bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Morgen

Mittags bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Mittag

Abends bedeutet: 5 Minuten nach der Verabreichung des Nasensprays am Abend

## A 07.4 Symptombogen zu Hause

Bitte füllen Sie den folgenden Bogen unmittelbar vor Ihrer Blutzuckerselbstmessung (also 15 Minuten nach dem Sprayen) aus. Benutzen Sie also den Zeitpunkt (morgens oder mittags oder abends), der in dem Blutzuckerprotokollbogen für den jeweiligen Versuchstag angegeben ist und tragen Sie Datum und Uhrzeit des Ausfüllens ein.

SEBB- LÄNGSSCHNITT (ZU HAUSE)	
Vp-Kenn-Nr.:	<b>Woche: 1</b>
Datum:	Uhrzeit:
Alter:	Geschlecht:

Wie stark sind die nachfolgend angegebenen Empfindungen bei Ihnen vorhanden - **und zwar in diesem Augenblick?**

Sie können zwischen **fünf** verschiedenen Empfindungsstärken wählen, die von **'gar nicht'** vorhanden (Stufe 0) **bis 'außerordentlich'** vorhanden (Stufe 4) reichen. Bitte kreuzen Sie für **jede** der folgenden Empfindungen die entsprechende Stufe an!

gar nicht	kaum	mittel-	ziemlich mäßig	außer-	ordentlich
Kopfschmerzen	0	1	2	3	4
Herzklopfen	0	1	2	3	4
Harndrang	0	1	2	3	4
Durst	0	1	2	3	4
Hunger	0	1	2	3	4
Schwäche	0	1	2	3	4
Schwitzen	0	1	2	3	4
Müdigkeit	0	1	2	3	4
Schwindel	0	1	2	3	4
Reizbarkeit	0	1	2	3	4
Unkonzentriertheit	0	1	2	3	4
Angst	0	1	2	3	4
Nervosität	0	1	2	3	4
Zittern	0	1	2	3	4
verschwommenes Sehen	0	1	2	3	4
Übelkeit	0	1	2	3	4
Speichelfluß	0	1	2	3	4
Atembeschwerden	0	1	2	3	4
Kribbeln an den Lippen	0	1	2	3	4
Sättigungsgefühl	0	1	2	3	4

Sonstige Empfindungen oder Beschwerden:

.....  
 .....

# 3-Tage Ernährungsprotokoll

Vom .....2006 bis .....2006

Vp-Nr.:

Alter:

Geschlecht:  m  w

Vegetarier:  ja  nein

Abgabe am:

1

Vp-Nr.:

Wochentag 1 (Versuchstermin):

Datum:

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

X: außer Haus

2

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

3

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

4

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

5

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

6

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

# A 07.6 Schlafprotokoll

## Schlafstagebuch

Messung:

Woche 1

Vp-Nr.:

.....

Bitte füllen Sie ab dem Abend des Labortermens diesen Bogen 7 Tage lang aus.

Tag	Wochentag/ Datum	Wann sind Sie zu Bett gegangen?	Wann sind Sie eingeschlafen?	Wann sind Sie am darauffolgenden Tag aufgewacht?	Wann sind Sie am darauf- folgenden Tag aufgestanden?	Haben Sie in der Nacht wach- gelegen? ja / nein	Wenn ja, wie lange insgesamt?
Tag 1	Montag, 24.07.06	Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 2		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 3		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 4		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 5		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 6		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 7		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min

Messung:

Woche 8

Vp-Nr.:

.....

Tag	Datum	Wann sind Sie zu Bett gegangen?	Wann sind Sie eingeschlafen?	Wann sind Sie am darauffolgenden Tag aufgewacht?	Wann sind Sie am darauf- folgenden Tag aufgestanden?	Haben Sie in der Nacht wach- gelegen? ja / nein	Wenn ja, wie lange insgesamt?
Tag 1		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 2							
Tag 3							

Messung:

Woche 16

Vp-Nr.:

.....

Tag	Datum	Wann sind Sie zu Bett gegangen?	Wann sind Sie eingeschlafen?	Wann sind Sie am darauffolgenden Tag aufgewacht?	Wann sind Sie am darauf- folgenden Tag aufgestanden?	Haben Sie in der Nacht wach- gelegen? ja / nein	Wenn ja, wie lange insgesamt?
Tag 1		Uhr	Uhr	Uhr	Uhr	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Stunden/Min
Tag 2							
Tag 3							

## A 07.7 Aktivitätsprotokoll

### Aktivitätsprotokoll

Liebe(r) Studienteilnehmer(in),

im Rahmen einer umfangreichen Datenerhebung möchten wir Sie bitten, Ihre physische Aktivität für 3 Tage zu dokumentieren. In der ersten Spalte tragen Sie bitte die Uhrzeit (sowohl Beginn als auch Ende der Aktivität) ein, in der zweiten Spalte die Art der Aktivität und in der dritten Spalte Ihre empfundene Intensität auf einer Skala von 0 – 5.

Der Wert 0 bedeutet: schlafen

Der Wert 1 bedeutet: Aktivität ohne Anstrengung

Der Wert 2 bedeutet: Aktivität mit leichter Anstrengung

Der Wert 3 bedeutet: Aktivität mit mittlerer Anstrengung

Der Wert 4 bedeutet: Aktivität mit hoher Anstrengung

Der Wert 5 bedeutet: Aktivität mit maximaler Anstrengung

Denken Sie bei der Protokollierung auch an alltägliche Aktivitäten, wie Hausarbeit (z.B. bügeln, saugen etc.) oder Besorgungen erledigen (zu Fuß einkaufen, Taschen tragen etc.).

Ein und dieselbe Aktivität kann unterschiedliche Werte annehmen, je nachdem, wie intensiv Sie diese Aktivität durchgeführt haben. Z. B. können sie ganz entspannt bügeln, ohne eine körperliche Anspannung zu fühlen oder Sie führen diese Tätigkeit mit aller Kraft aus und spüren eine deutliche Belastung in den Armen und eine Erhöhung der Herzfrequenz.

Zur Veranschaulichung bekommen Sie von der Versuchsleiterin einen Beispielbogen.

Vp.-Nr.:

**Woche: Probewoche**

Tag 1 Datum:

Uhrzeit (von..bis)	Aktivität	Intensität (0-5)




Vp.-Nr.:

**Woche: Probewoche**

Tag 2 Datum:

Uhrzeit (von..bis)	Aktivität	Intensität (0-5)


Vp.-Nr.:

**Woche: Probewoche**

Tag 3 Datum:

Uhrzeit (von..bis)	Aktivität	Intensität (0-5)



## A 07.8 Zykluskalender

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,
  - 1) die Angaben mit dem *aktuell laufenden Zyklus* zu beginnen,
  - 2) 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	

## Danksagung

Mein Dank gilt allen Freunden und Wegbegleitern, die mich bei der Fertigstellung der Dissertation unterstützt haben, die sowohl fachlich, als auch motivierend an meiner Seite waren.

Ein ganz besonderer Dank geht an Frau Prof. Dr Ursula Stockhorst, die mich geduldig und mit viel Zeit und Mühe die ganze Zeit über unterstützt hat. Nur Ihre konstruktive Kritik und fachliche Kompetenz hat die Arbeit zu dem gemacht, was sie ist – ich danke Ihnen dafür von Herzen.

Ich danke insbesondere meiner Familie: meinen Eltern, die mir mein Traumstudium ermöglicht haben, meinem Mann und meinen Kindern für die Geduld und Nerven, die sie während der langen Zeit immer wieder aufbringen mussten.

Dr. Maren Blicke, danke für die zeitintensive - aber dank Dir - immer kurzweilige und vor allem freudige Zeit während der Datenerhebung und der nachfolgenden Jahre! Es war und bleibt ein besonderer Abschnitt in meinem Leben.