

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Lehnert

**Effekte einer zweimonatigen intranasalen Insulinbehandlung auf die
Körperzusammensetzung beim Menschen: Insulin Aspart *versus* Humaninsulin**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
-Aus der medizinischen Fakultät-

vorgelegt von
Anja Bublitz
aus Hannover

Lübeck 2009

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Kern

2. Berichterstatterin: Prof. Dr. K. Oltmanns

Tag der mündlichen Prüfung: 13.07.2009

Zum Druck genehmigt Lübeck, den 13.07.2009

gez. Prof. Dr. med. W. Solbach

-Dekan der Medizinischen Fakultät-

Inhaltsverzeichnis

Kapitel	Seite
Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung.....	- 1 -
1.1 Aufnahme von Insulin in das Zentrale Nervensystem.....	- 1 -
1.2 Nachweis von Insulin und Insulinrezeptoren im ZNS	- 2 -
1.3 Die Rolle des Insulins im Energiestoffwechsel.....	- 3 -
1.3.1 Zentralnervöses Insulin stimuliert die Freisetzung von Proopiomelanocortin	- 6 -
1.3.2 Hemmende Wirkung von zentralnervösem Insulin auf das Neuropeptid Y	- 7 -
1.3.3 Synergistische Wechselwirkung von Insulin und Cholezystokinin im ZNS ...	- 8 -
1.3.4 Wirkung von zentralnervösem Insulin auf den Grundumsatz	- 9 -
1.3.5 Fehlfunktionen der zentralen Insulinwirkung.....	- 10 -
1.4 Intranasale Applikation.....	- 12 -
1.5 Unterschiede zwischen Insulin Aspart und Humaninsulin.....	- 13 -
1.6 Zielsetzung und Hypothesen	- 14 -
2 Material und Methoden	- 16 -
2.1 Versuchspersonen.....	- 16 -
2.2 Studiendesign	- 16 -
2.3 Wöchentliche Kontrolluntersuchungen	- 18 -
2.4 Hauptuntersuchungen	- 22 -

2.5	Blutentnahmen.....	- 23 -
2.6	Statistische Auswertung	- 23 -
3	Ergebnisse.....	- 25 -
3.1	Körpergewicht und Bauchumfang.....	- 25 -
3.1.1	Körpergewicht.....	- 25 -
3.1.2	Bauchumfang	- 26 -
3.2	Körperzusammensetzung	- 26 -
3.2.1	Körperfettmasse	- 27 -
3.2.2	Körpermagermasse.....	- 28 -
3.2.3	Körperzellmasse.....	- 29 -
3.2.4	Extrazellulärmasse	- 29 -
3.2.5	Gesamtkörperwasser	- 29 -
3.2.6	Intrazellulärwasser	- 29 -
3.2.7	Extrazellulärwasser	- 29 -
3.3	Plasmaglukose und Hormonkonzentrationen	- 30 -
3.3.1	Plasmaglukose und Seruminsulin	- 31 -
3.3.2	Leptin	- 31 -
3.3.3	Insulin-like growth factor 1.....	- 31 -
3.3.4	Testosteron	- 31 -
3.4	Blutdruck und Blutparameter	- 32 -
4	Diskussion.....	- 33 -
4.1	Unterschiede in der Wirksamkeit von Humaninsulin und Insulin Aspart.....	- 38 -
4.2	Aussagebegrenzungen der Studie.....	- 38 -
4.3	Ausblick: intranasale Insulinapplikation zur Therapie von Übergewicht	- 40 -
5	Zusammenfassung	- 42 -

6	Literaturverzeichnis	- 43 -
7	Danksagung	- 58 -
8	Lebenslauf	- 59 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Insulinwirkungen im Hypothalamus	- 6 -
Abbildung 2:	Studiendesign	- 18 -
Abbildung 3:	Körperzusammensetzung	- 20 -
Abbildung 4:	Kondensatoreigenschaften der Zelle	- 21 -
Abbildung 5:	Auswirkungen auf Fettmasse und Magermasse	- 28 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Auswirkungen auf Körpergewicht und Bauchumfang.....	- 25 -
Tabelle 2:	Auswirkungen auf die Körperzusammensetzung.....	- 26 -
Tabelle 3:	Auswirkungen auf Plasmaglukose und Hormonkonzentrationen	- 30 -

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotrophes Hormon
ANOVA.....	Varianzanalyse
α -MSH	Melanozyten-stimulierendes Hormon Alpha
BIA	Bioelektrische Impedanz Analyse
BMI.....	Body-mass-Index (Körpergewicht in kg/Körpergröße in m ²)
bzw.	beziehungsweise
CCK	Cholecystokinin
cm	Zentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
d	Tag
Δ	Differenz
HDL	Lipoproteine hoher Dichte
HI-Gruppe.....	Humaninsulin Gruppe
HOE	Hoechst
γ -GT	Gammaglutamyltransferase
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
°C	Grad Celsius
IAsp-Gruppe	Insulin Aspart Gruppe
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
I.E.	Internationale Einheiten
kg	Kilogramm
kHZ.....	Kilohertz
l	Liter
LDL	Lipoproteine niedriger Dichte
MCR-4.....	Melanocortinrezeptor 4
μ g.....	Mikrogramm
μ U	Mikrounits
ml	Milliliter
mmol.....	Millimol
MRT	Magnetresonanztomographie

ng Nanogramm
nmol Nanomol
NPY Neuropeptid Y
POMC Proopiomelanocortin
TSH Thyroidea stimulierendes Hormon
ZNS Zentrales Nervensystem

1 Einleitung

Die Prävalenz von Übergewicht und dessen Folgeerkrankungen nimmt in Deutschland und der Welt stetig zu, daher ist die Erforschung der Regulationsmechanismen von Nahrungsaufnahme und Energiehaushalt von besonderer Bedeutung (Kopelman, 2000; Flegal *et al.*, 2002; Hossain *et al.*, 2007). Obwohl die Menge der täglichen Nahrungsaufnahme erheblich schwanken kann, ist das Gewicht beim Menschen über längere Lebensabschnitte relativ konstant. Dies deutet auf ein gewichtsregulierendes System hin (Schwartz *et al.*, 2000). Sinnvolle Therapien gegen Übergewicht lassen sich nur entwickeln, wenn die Störgrößen innerhalb dieses Systems, die zum Bild des Übergewichtes führen, erkannt werden. Hierzu ist es zunächst wichtig, die beteiligten Botenstoffe und Kompartimente zu bestimmen und deren Funktionen innerhalb des gewichtsregulierenden Systems zu definieren. Bereits viele Studien konnten in diesem Zusammenhang die exponierte Stellung des Hormons Insulin aufzeigen (Woods *et al.*, 1990; Figlewicz, 2003; Plum *et al.*, 2006). In der hier vorliegenden Studie werden die Auswirkungen einer achtwöchigen intranasalen Gabe von Insulin Aspart auf die Körperzusammensetzung beim Menschen präsentiert.

1.1 Aufnahme von Insulin in das Zentrale Nervensystem

Insulin wird in den Betazellen der Langerhans'schen-Inseln des Pankreas gebildet. Wie seit langem bekannt, reguliert es insbesondere den Blutzuckerspiegel, den Kaliumhaushalt und den Energiestoffwechsel in der Körperperipherie (Ritter, 2008). Da das Gehirn Glukose insulinunabhängig verstoffwechseln kann, fand die Erforschung von zentralnervösen Funktionen im Zusammenhang mit Insulin lange keine Beachtung (Crone, 1965, Schwarz 1992a). Das änderte sich allerdings schlagartig, als entdeckt wurde, dass Insulin

konzentrationsabhängig aus dem Blut ins Zentrale Nervensystem (ZNS) gelangt und im Gehirn zahlreiche Insulinrezeptoren exprimiert werden (Wallum *et al.*, 1987).

Humaninsulin hat ein Molekulargewicht von 5700 Dalton und kann die Blut-Hirnschranke auf parazellulärem Weg nicht überwinden. Nur Stoffe bis zu einer Größe von 600 Dalton können zwischen den Endothelzellen der Hirnkapillaren hindurchgelangen, da diese durch *Tight-junctions* verbunden sind (Illum, 2000). Lediglich im Bereich der zirkumventriculären Organe, wo die Blut-Hirn-Schranke durch das Vorliegen von fenestriertem Endothel eine besonders hohe Durchlässigkeit besitzt, ist der Übertritt von Insulin aus dem peripheren Blut in das Gehirn möglich (Van Houten und Posner, 1983). Zusätzlich existiert ein aktiver, Rezeptor-vermittelter und sättigbarer Transport, mit dem Insulin auf transzellulärem Weg die Blut-Hirn-Schranke überwindet (Pardrige *et al.*, 1985; Baura *et al.*, 1993). Der Transport von Insulin ins ZNS erfolgt proportional zum Insulinspiegel im peripheren Kreislauf. So steigt bei intravenöser Insulingabe auch die Insulinkonzentration im Liquor an (Wallum *et al.*, 1987; Schwartz *et al.*, 1990).

1.2 Nachweis von Insulin und Insulinrezeptoren im ZNS

Bereits 1978 konnten sowohl Insulin als auch Insulinrezeptoren im Gehirn der Ratte nachgewiesen werden (Havrankova *et al.*, 1978). In Übereinstimmung mit diesen tierexperimentellen Befunden wurden auch beim Menschen Insulinrezeptoren im ZNS gefunden (Hopkins und Williams, 1997). Eine genaue Lokalisierung dieser Rezeptoren beim Menschen erfolgte durch Unger *et al.* (Unger *et al.*, 1991). Demnach befindet sich die höchste Rezeptorendichte im Bulbus Olfactorius, im Hypothalamus und im Hippokampus. Der Hypothalamus wird seit langem als zentrale Regulationsstelle der Nahrungsaufnahme gesehen (Luiten *et al.*, 1987; Palkovits, 2003). Besonders im dort gelegenen Nucleus arcuatus sind wichtige Rezeptoren lokalisiert, über welche die Insulinwirkungen vermittelt

werden. Der Hippokampus ist als Teil des Limbischen Systems an der Gedächtnis- und Lernfunktion des Gehirns beteiligt. Folglich lässt auch die Lokalisation der Insulinrezeptoren einen Einfluss von Insulin auf die Nahrungsaufnahme und die Gedächtnisfunktion vermuten (Menendez und Atrons, 1991).

Die Insulinrezeptoren des ZNS sind funktional identisch mit den bekannten Insulinrezeptoren der Körperperipherie. Es handelt sich um membrangebundene Glykoproteine, welche aus zwei extrazellulären Alpha- und zwei intrazellulär gelegenen Beta-Untereinheiten bestehen und Tyrosinkinaseaktivität besitzen. Bindet Insulin an die Alpha-Untereinheit, kommt es zur Autophosphorylierung der Beta-Untereinheit. Dadurch werden verschiedene intrazelluläre Signalkaskaden in Gang gesetzt, die letztendlich die Hormonwirkung des Insulins vermitteln (Kahn und Goldfine, 1993; Schulingkamp *et al.*, 2000).

1.3 Die Rolle des Insulins im Energiestoffwechsel

Die Größe der Körperenergiespeicher wird heute, ebenso wie beispielsweise die Körpertemperatur, als eine durch das Gehirn regulierte Größe angesehen (Schwartz *et al.*, 1992a). In diesem Zusammenhang sind die Hormone Insulin und Leptin von zentraler Bedeutung. Sie wirken als periphere Adipositassignale, indem sie dem Gehirn den Status der gespeicherten Energie des Körpers übermitteln.

Leptin wird ausschließlich von den Fettzellen gebildet und sezerniert. Seine Konzentration im Serum verhält sich proportional zur Körperfettmasse (Considine *et al.*, 1996). Wie das Insulin gelangt es über ein sättigbares Transportsystem ins Gehirn und bindet an Rezeptoren, die sich unter anderem im Hypothalamus befinden. Zu den wichtigsten zentralnervösen Wirkungen des Leptins zählen eine Abnahme der

Nahrungsaufnahme und eine Steigerung des Energieverbrauchs (Banks *et al.*, 1996; Benoit *et al.*, 2004).

Stärkster Reiz für die Freisetzung von Insulin aus den Langerhans'schen Inseln ist ein Anstieg der Serumglukose. Mittels Exozytose wird Insulin aus den Betagranula in den perikapillären Raum abgegeben und gelangt von dort aus ins Blut. Durch die Bindung an periphere Insulinrezeptoren stimuliert Insulin über die Aktivierung von Proteinkinasen vorrangig die Glukoseutilisation in Muskel- und Fettzellen, sowie die Glykogenbildung in Leber und Muskel. Außerdem hemmt Insulin die endogene Glukoneogenese in der Leber (Ritter, 2008). Im Gegensatz zur peripheren Glukoseaufnahme ist die des Gehirns insulinunabhängig, das heißt die Nervenzellen können Glukose auch in Abwesenheit von Insulin aufnehmen (Crone, 1965). In Übereinstimmung mit seiner Rolle als Adipositassignal verhalten sich die basalen Insulinkonzentrationen im Plasma proportional zum Körperfettgehalt (Polonsky *et al.*, 1988; Woods *et al.*, 1998). Dementsprechend führt Nahrungskarenz zu einem Absinken des basalen Plasmainsulinspiegels, wohingegen bei Übergewicht die basale Insulinkonzentration erhöht ist (Kyriaki, 2003). Auch akute Änderungen im Energiehaushalt, wie z.B. die Nahrungsaufnahme, wirken sich auf die Insulinkonzentration im Plasma aus und die Glucose-induzierte Insulinfreisetzung während einer Mahlzeit ist ebenfalls abhängig vom Körpergewicht (Polonsky *et al.*, 1988). Weiterhin stellten Wallum *et al.* fest, dass sich die Insulinspiegel im Liquor cerebrospinalis proportional zur Plasmakonzentration des Insulins verhalten (Wallum *et al.*, 1987). Dies gilt sowohl für die basalen Plasmainsulinspiegel, als auch für kurzzeitige Anstiege der Insulinkonzentration bei der Nahrungsaufnahme (Schwartz *et al.*, 1992a).

Die wichtige Rolle des Insulin für die Körpergewichtshomöostase konnte mittlerweile sowohl tier- als auch humanexperimentell untermauert werden. So führt bei Ratten und Affen die intrazerebroventrikuläre Injektion von Insulin zu einer Abnahme des

Körpergewichts (Woods *et al.*, 1979; Air *et al.*, 2002). In Übereinstimmung mit diesen tierexperimentellen Befunden konnten Hallschmid *et al.* nach achtwöchiger intranasaler Insulingabe (160 Internationale Einheiten (I.E.) pro Tag) auch bei männlichen Probanden einen Gewichtsverlust beobachten, der vor allem durch eine Reduktion des Körperfettzustands kam (Hallschmid *et al.*, 2004b). Diese Befunde bestätigen die Hypothese, dass Insulin im ZNS des Menschen gewichtsregulierende Regelkreise aktiviert.

Seine katabole Wirkung vermittelt das Insulin über die Aktivierung von Neuronengruppen des Nucleus arcuatus (Synonym: Nucleus infundibularis), einem Kerngebiet des Hypothalamus, welches sich am Boden des dritten Hirnventrikels befindet. Insulin fördert im ZNS die Bildung von anorexigenen Neuropeptiden (den Appetit hemmend). Gleichzeitig hemmt es die Freisetzung von orexigenen Botenstoffen (den Appetit stimulierend). Die Neuronengruppen des Nucleus arcuatus stehen in Beziehung zu den paraventriculären und lateralen Kerngebieten des Hypothalamus, welche an der Regulation der Körpergewichtshomöostase beteiligt sind. (siehe Abbildung 1).

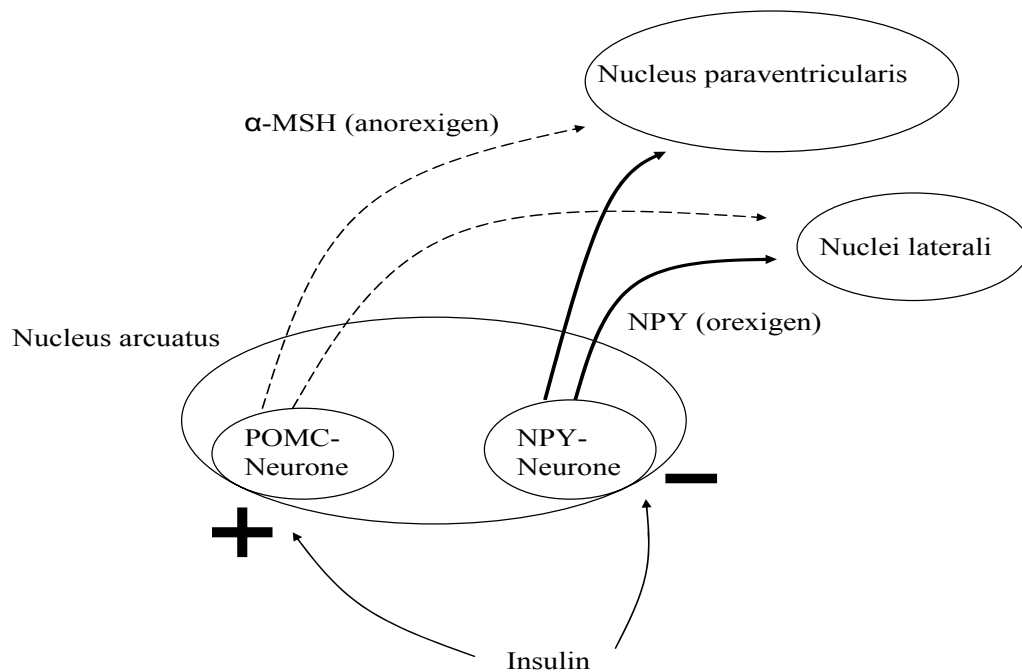


Abbildung 1: *Insulinwirkungen im Hypothalamus (nach Benoit et al., 2004)*

Insulin wirkt im Nucleus arcuatus des Hypothalamus stimulierend auf Proopiomelanocortin-Neurone (POMC-Neurone), was eine Freisetzung des Melanozyten-stimulierenden Hormons Alpha (α -MSH) bewirkt. Weiterhin hemmt Insulin die Freisetzung des Neuropeptids Y (NPY). NPY und α -MSH vermitteln ihre anorexigene bzw. orexigene Wirkung über eine Beeinflussung des Nucleus paraventricularis und der Nuclei laterali des Hypothalamus.

1.3.1 Zentralnervöses Insulin stimuliert die Freisetzung von Proopiomelanocortin

Proopiomelanocortin (POMC) ist die gemeinsame Vorstufe verschiedener Neuropeptide, darunter das adrenocorticotrophe Hormon (ACTH), Beta-Endorphin, und die Melanozyten-stimulierenden Hormone Alpha, Beta und Gamma. Im Nucleus arcuatus befinden sich POMC-Neurone, deren Axone unter anderem zu den ventromedialen und lateralen Hypothalamuskernen ziehen, wo die Freisetzung der Genprodukte erfolgt. Unter den genannten Neuropeptiden ist insbesondere das Melanozyten-stimulierende Hormon Alpha (α -MSH) als Botenstoff mit anorektischer Wirkung an der Regulation der Körpergewichtshomöostase beteiligt. Die Injektion von α -MSH in das Ventrikelsystem von

Ratten führt dazu, dass diese weniger Nahrung aufnehmen (Poggioli *et al.*, 1986). Fehm *et al.* zeigten, dass nach achtwöchiger intranasaler Gabe einer gemeinsamen Vorstufe von α -MSH und ACTH (MSH/ACTH₄₋₁₀) der Körperfettgehalt normalgewichtiger Probanden abnimmt (Fehm *et al.*, 2001). Es sind derzeit fünf Subtypen des Melanocortinrezeptors bekannt, wobei nur die Melanocortinrezeptoren 3 und 4 im ZNS lokalisiert sind. Besonders der Melanocortinrezeptor 4 (MCR-4) scheint für die Körpergewichtsregulation von Bedeutung zu sein (Adan *et al.*, 2006). Beispielsweise geht ein defekter MCR-4 bei Mäusen mit einer gesteigerten Nahrungsaufnahme und starkem Übergewicht einher (Huszar *et al.*, 1997). Mittels Immunhistochemie konnten Insulinrezeptoren auf den POMC-Neuronen des Nucleus arcuatus nachgewiesen werden, womit erste Hinweise für eine Interaktion von Insulin und POMC gegeben waren. Die Injektion von Insulin in den dritten Hirnventrikel zeigte eine Aktivierung der Genexpression von POMC (Benoit *et al.*, 2002). Da das POMC-Gen verschiedene Neuropeptide als Genprodukte besitzt, ist aus diesen Ergebnissen allein nicht zu erkennen über welches Neuropeptid die Insulinwirkung weitervermittelt wird. Obici *et al.* zeigten, dass die zentrale Gabe eines MCR-4-Antagonisten zur Aufhebung der gewichtsreduzierenden Effekte von Insulin führt. Hieraus kann gefolgert werden, dass Insulin seine gewichtsreduzierende Wirkung über eine Aktivierung der Genexpression von POMC und weiter über eine vermehrte Freisetzung von α -MSH vermittelt, welches den MCR-4 aktiviert (Obici *et al.*, 2001).

1.3.2 Hemmende Wirkung von zentralnervösem Insulin auf das Neuropeptid Y

Das Neuropeptid Y (NPY) gilt als wichtigster orexigener Neurotransmitter. Es wird unter anderem im Nucleus arcuatus des Hypothalamus und im Hirnstamm produziert. Die NPY-Neurone des Nucleus arcuatus stehen mit den paraventriklären und lateralen Hypothalamuskernen in Verbindung, wo die Freisetzung von NPY erfolgt (Zimanyi *et al.*,

1998). Eine intrazerebroventrikuläre Injektion von NPY führt bei Ratten zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme, zu einem reduzierten Energieverbrauch und zur Aktivierung der Lipogenese in der Leber (Stanley *et al.*, 1986; Van Dijk *et al.*, 1994). Bei wiederholter Gabe resultiert so Übergewicht (Zarjevski *et al.*, 1993). Kalra *et al.* untersuchten die Freisetzung von NPY in den paraventriculären Kerngebieten des Hypothalamus der Ratte. Sie stellten fest, dass ein starkes Hungergefühl mit hohen Konzentrationen an NPY einhergeht, wohingegen die Nahrungsaufnahme die Produktion von NPY vermindert (Kalra *et al.*, 1991). Die intranasale Gabe von NPY beim Menschen führt dazu, dass die Aktivität von Hirnbereichen, welche ein Sättigungsgefühl vermitteln, abnimmt (Hallschmid *et al.*, 2004a). Schwartz *et al.* injizierten Insulin in den dritten Hirnventrikel von Ratten, die sich im Hungerzustand befanden. Hierdurch blieb der Anstieg von NPY im Nucleus arcuatus und im Nucleus paraventricularis aus. Also sind die im Hungerzustand geringen Insulinspiegel für einen Anstieg von NPY während Fastenzeiten verantwortlich (Schwartz *et al.*, 1992b).

1.3.3 Synergistische Wechselwirkung von Insulin und Cholezystokinin im ZNS

Cholezystokinin (CCK) wird von endokrinen Zellen der Duodenalschleimhaut gebildet und gilt als wichtiges Sättigungssignal. Seine Freisetzung wird durch Fettsäuren, Aminosäuren und Peptide aus der Nahrung aktiviert. Es führt zur Kontraktion der Gallenblase und stimuliert die Sekretion von Pankreasenzymen. Appliziert man Mäusen CCK direkt vor einer Mahlzeit, nehmen diese eine geringere Menge an Nahrung auf (Gibbs *et al.*, 1973). Dieser Effekt lässt sich auch beim Menschen nachweisen (Muraahainenn *et al.*, 1988).

Seine sättigende Wirkung vermittelt das CCK über die Bindung an den CCK-1 Rezeptor, wie es die Gabe eines CCK-1 Rezeptorantagonisten belegt. Diese führt zur Abnahme des Sättigungsgefühls (Beglinger *et al.*, 2001). Der CCK-1 Rezeptor befindet

sich an sensorischen Fasern des Nervus vagus, über dessen afferente Fasern werden diese Informationen an den im Hirnstamm gelegenen Nucleus Tractus solitarius weitergeben (Schwartz *et al.*, 2000). Eine Unterbrechung des Nervus vagus führt zur Aufhebung der sättigenden Wirkung von CCK (Smith *et al.*, 1981). Riedy *et al.* fanden heraus, dass sich durch die Gabe von Insulin ins Ventrikelsystem die sättigende Wirkung des CCKs steigern lässt (Riedy *et al.*, 1991). Die Wirkverstärkung von sättigend wirkenden Entero hormonen ist also ein weiteres Prinzip, durch welches Insulin die Nahrungsaufnahme verringert (Woods, 2004). Diese Beeinflussung wird wahrscheinlich über Nervenbahnen zwischen dem Hypothalamus - den die Adipositassignale über den Körperfettgehalt informieren - und dem Nucleus tractus solitarius vermittelt, wo die Sättigungssignale eingehen.

1.3.4 Wirkung von zentralnervösem Insulin auf den Grundumsatz

Der Begriff der Körpergewichtshomöostase umfasst die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichts zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch. Die Regulation des Energieverbrauchs unterliegt ebenfalls hypothalamischer Kontrolle (Richard, 2007). Die im Hypothalamus gelegenen paraventriculären und lateralen Kerngebiete stehen mit dem Locus coeruleus und hierüber mit dem sympathischen Nervensystem in Verbindung. Über diesen Regelkreis wird der Energieverbrauch in Abhängigkeit vom Energiestatus des Körpers beeinflusst. Dies zeigt sich bei der Betrachtung der Mahlzeiten-induzierten Thermogenese. Hierbei kommt es in Abhängigkeit von der aufgenommenen Kalorienmenge zur Wärmebildung durch Fettsäureoxidation im braunen Fettgewebe. Diese Reaktion wird über Fasern des sympathischen Nervensystems aktiviert (Himms-Hagen, 1979). Die Gabe von Diazoxide, welches die Freisetzung von Insulin aus dem Pankreas hemmt, führt zu einer deutlichen Abnahme der Mahlzeiten-induzierten Wärmebildung (Rothwell *et al.*, 1983). Injiziert man Insulin direkt in den Nucleus paraventricularis, wird

die Thermogenese aktiviert (Menendez und Atrens, 1991). Muntzel et al. wiesen eine Zunahme der Aktivität von sympathischen Nervenfasern bei der Gabe von Insulin in den dritten Hirnventrikel nach (Muntzel *et al.*, 1995). Eine Beeinflussung des Energieverbrauchs durch das Insulin über eine Aktivierung des sympathischen Nervensystems ist wahrscheinlich (Rothwell und Stock, 1988). Allerdings konnten diese an Tieren gemachten Beobachtungen bisher nicht für den Menschen bestätigt werden.

1.3.5 Fehlfunktionen der zentralen Insulinwirkung

Es gibt zunehmend Hinweise, dass eine Fehlfunktion der zentralnervösen Insulinwirkung an der Entstehung von Übergewicht und Diabetes mellitus Typ 2 beteiligt ist (Isganaitis und Lustig, 2005; Porte *et al.*, 2005; Schwartz und Porte, 2005). Eine Reihe von Tierversuchen zeigt eine Beeinträchtigung der Körpergewichtshomöostase bei vermindertem Insulinsignal im ZNS. Die Antagonisierung von Insulin im ZNS mittels Autoantikörpern führt zu einer gesteigerten Nahrungsaufnahme und Gewichtszunahme (Strubbe und Mein, 1977; Mc Gowan *et al.*, 1990). Mäuse, deren zentrale Insulinrezeptoren durch Genmutation defekt sind, zeigen Übergewicht und zusätzlich eine gestörte Glucosetoleranz (Brüning *et al.*, 2000). Obici *et al.* erreichten eine gezielte Abnahme an Insulinrezeptoren im Nucleus arcuatus von Ratten und konnten ebenfalls eine Zunahme der Nahrungsaufnahme und der Körperfettmasse zeigen (Obici *et al.*, 2002b).

Baskin *et al.* beschrieben bei übergewichtigen Ratten einen geringeren Insulingehalt im ZNS (Baskin *et al.*, 1985). Kaiyala *et al.* vermuten, dass Mechanismen, welche in der Körperperipherie zu einer verminderten Insulinwirkung führen, auch die Wirkung von Insulin im ZNS beeinträchtigen. Zu dieser Annahme gelangen sie, da die Aufnahme von Insulin ins Gehirn ebenso wie die peripheren Insulinwirkungen über spezielle Insulinrezeptoren vermittelt werden (Kaiyala *et al.*, 2000). Die Zufuhr hochkalorischer

Kost führt zur Abnahme der Insulinsensitivität in der Körperperipherie und zur Gewichtszunahme (Storlien *et al.*, 1991). Ebenso wirkt sich die Gabe von Glucokortikoiden aus. Kaiyala *et al.* zeigten bei Versuchen an Hunden, dass eine Zufuhr von hochkalorischer Diät auch zu einer Abnahme des Insulintransports ins ZNS führt. Genauso resultiert die Gabe von Glucokortikoiden in einer verminderten Aufnahme von Insulin ins Gehirn (Baura *et al.*, 1996). Sowohl im Tierversuch, als auch beim Menschen, geht Übergewicht mit einer erniedrigten Transportrate von Insulin durch die Blut-Hirn-Schranke einher (Stein *et al.*, 1987; Kern *et al.*, 2003). Ursache für die Entwicklung von Übergewicht in den genannten Versuchen scheint also eine verminderte Menge an Insulin im ZNS zu sein, bedingt durch eine Störung des rezeptor-vermittelten Transports durch die Blut-Hirn-Schranke.

Eine weitere Theorie geht davon aus, dass eine Abnahme der neuronalen Antwort auf das Insulinsignal im ZNS für das Auftreten von Übergewicht verantwortlich sein könnte. Anlass hierfür liefern Versuche an übergewichtigen Ratten, bei denen nach intraventrikulärer Injektion Gewicht und Nahrungsaufnahme nicht in demselben Maß wie bei normalgewichtigen Ratten reduziert werden konnten (Ikeda *et al.*, 1986). Durch körperliche Betätigung konnte bei Ratten wiederum eine Zunahme der Insulinsensitivität im Hypothalamus festgestellt werden (Flores *et al.*, 2006).

Es wird derzeit intensiv ein kausaler Zusammenhang zwischen Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 diskutiert (Prodi und Obici, 2006). Beim Diabetes mellitus Typ 2 kommt es zu einer Abnahme der Insulinsensitivität von Muskel-, Fettgewebe und der Leber, sowie zu einer Störung der Insulinsekretion aus den Langerhans'schen Inseln. Besonders die unzureichende Hemmung der endogenen Glukoseproduktion der Leber scheint für das Auftreten von Hyperglykämien verantwortlich zu sein (Cherrington, 1999).

Zur zentralen Wirkung des Insulins zählt ebenfalls eine Hemmung der hepatischen Glucoseproduktion, wie die Injektion von Insulin in den Liquor bestätigt. Vermutlich bildet dieser zentrale Effekt des Insulins erst zusammen mit der systemischen Wirkung des Insulins die volle hemmende Wirkung auf die endogene Glukoseproduktion der Leber aus (Obici *et al.*, 2002b). Vermittelt wird die hemmende Wirkung wahrscheinlich über die Aktivierung zentraler Kaliumkanäle und weiter über den Nervus vagus (Pocai *et al.*, 2005). Die Gabe von Insulinantikörpern in den dritten Ventrikel führt zu einem Anstieg der hepatischen Glukoseproduktion, indem die Sensitivität der Hepatozyten gegenüber Insulin abnimmt (Obici *et al.*, 2002a). Insulin ist im ZNS folglich sowohl an der Regulation des Körperfettgehalts, als auch der Glukosehomöostase des Körpers beteiligt. Somit ist eine Fehlfunktion der zentralen Insulinwirkung als gemeinsame Ursache für die Entstehung von Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 denkbar (Porte *et al.*, 2005).

1.4 Intranasale Applikation

Lange Zeit stand zur Untersuchung von zentralen Insulineffekten beim Menschen nur die intravenöse Gabe zur Verfügung. Durch die Steigerung der Seruminsulinkonzentration kann ein Anstieg der Insulinkonzentration im Liquor cerebrospinalis erreicht werden (Wallum *et al.*, 1987; Schwartz *et al.*, 1990). Allerdings führt die intravenöse Insulininfusion zu Hypoglykämien, welche ihrerseits auch die Funktionen des ZNS beeinflussen. Somit lassen sich schwer Aussagen über die direkten Insulinwirkungen im ZNS machen. Das Auftreten von Hypoglykämien kann durch eine zeitgleiche Glukosegabe umgangen werden. Aber auch Effekte, welche unter diesen hyperinsulinären, normoglykämischen Zuständen (euglykämischer Clamp) gemessen wurden, sind nur bedingt aussagekräftig, da nicht zwischen peripheren und zentralen Insulinwirkungen unterschieden werden kann (Kern *et al.*, 1997).

Seit der Erforschung der intranasalen Neuropeptidgabe steht eine neue Applikationsform zur Verfügung, welche die Gabe von Insulin ins ZNS unter Umgehung des peripheren Blutkreislaufs ermöglicht (Kern *et al.*, 1999; Born *et al.*, 2002). So bleiben Blutzuckerspiegel, Seruminsulinspiegel und Kaliumhaushalt unbeeinflusst (Lawrence, 2002). Insulin wird hierbei mit Hilfe eines Nasensprays appliziert und gelangt durch den Bulbus Olfactorius in das Gehirn. Als wichtigste Aufnahmewege gelten dabei der Axonale Transport, der allerdings sehr langsam ist, der Extrazelluläre Transport durch Spalten im Bulbus Olfactorius und der Transzelluläre Transport mittels rezeptorvermittelter Endozytose (Illum, 2000).

In dieser Studie wurde die intranasale Form der Insulinapplikation ins ZNS gewählt, da sie keine unerwünschten Wirkungen auf Blutzuckerspiegel und Seruminsulinkonzentration hat. Sie ist außerdem gering invasiv und auch über einen Zeitraum von acht Wochen leicht durchführbar. Born *et al.* wiesen durch Messungen mit einem intraspinalen Katheter nach, dass die intranasale Gabe von 40 Internationale Einheiten (I.E.) Humaninsulin zu einem Anstieg der Insulinkonzentration im ZNS über mindestens 80 Minuten führt (Born *et al.*, 2002).

1.5 Unterschiede zwischen Insulin Aspart und Humaninsulin

Insulin ist ein Peptidhormon und besteht im aktiven Zustand aus zwei Aminosäureketten. Die kürzere der beiden Ketten, die A-Kette, besteht aus 21 Aminosäuren und ist durch zwei Disulfidbrücken mit der 30 Aminosäuren umfassenden B-Kette verbunden. Humaninsulin lagert sich in handelsüblicher Lösung zum Großteil als Hexamer zusammen. Im Gegensatz dazu bildet das Insulinanalogon Insulin Aspart, bei dem mittels DNA-Rekombination an Stelle 28 der B-Kette die Aminosäure Prolin gegen Asparaginsäure ausgetauscht wurde, hauptsächlich Mono – und Dimere. Dadurch gelangt Insulin Aspart nach subkutaner

Applikation schneller als Humaninsulin in den Blutkreislauf. Mudaliar *et al.* zeigten, dass durch die Gabe von Insulin Aspart höhere Insulinkonzentrationen im Blut erreicht werden und die insgesamt aufgenommene Menge an Insulin nach der Gabe von Insulin Aspart größer ist als nach der Gabe der gleichen Menge Humaninsulin (Mudaliar *et al.*, 1999). Das Verhalten beider Insuline am Insulinrezeptor unterscheidet sich dagegen nicht (Gammeltoft *et al.*, 1999). Bei der intranasalen Applikation gelangt das Insulin mittels transzellulärem Transport oder durch Spalten im Bulbus Olfactorius in das ZNS. Bei beiden Mechanismen ist die Transportrate abhängig vom Molekulargewicht. Stoffe mit einem geringeren Molekulargewicht finden sich in höheren Konzentrationen im Liquor wieder (Sakane *et al.*, 1995). Somit ist davon auszugehen, dass das kleinere Insulinmonomer schneller und besser als das Humaninsulin aufgenommen wird und im ZNS eine stärkere Wirkung erzielt.

1.6 Zielsetzung und Hypothesen

Vorangegangene Studien erzielten mit der intranasalen Applikation von täglich 160 I.E. Humaninsulin über acht Wochen bei normalgewichtigen Männern eine signifikante Abnahme von Gewicht und Körperfett (Hallschmid *et al.*, 2004b). Da Insulin Aspart nach der subkutanen Injektion schneller zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels als Humaninsulin führt und in größeren Mengen ins Blut aufgenommen wird, soll in dieser Studie überprüft werden, ob bei gleicher Dosis (160 I.E./Tag über 8 Wochen) die intranasale Gabe von Insulin Aspart auch zu einer stärkeren Gewichtsreduktion führt als die Gabe von Humaninsulin.

Zu überprüfende Hypothesen:

1. Die intranasale Applikation von insgesamt 160 I.E. Insulin Aspart pro Tag über einen Zeitraum von 8 Wochen führt zu einer Abnahme des Körpergewichts.
2. Eine Abnahme des Körpergewichts wird hauptsächlich durch eine Reduktion der Körperfettmasse erzielt.
3. Im Vergleich zu Humaninsulin sind die reduzierenden Effekte von Insulin Aspart auf das Körpergewicht und die Körperfettmasse bei gleicher Dosis größer.
4. Plasmaglukose- und Seruminsulinspiegel bleiben von der intranasalen Insulingabe unbeeinflusst.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchspersonen

An der vorliegenden Studie nahmen 36 gesunde, normalgewichtige Männer (Body-mass-Index (BMI) < 25 kg/m²) im Alter von 18 bis 35 Jahren teil. Bekannte psychische, neurologische, kardiovaskuläre, pulmonale, endokrinologische und gastrointestinale Erkrankungen sowie Essstörungen und regelmäßige Medikamenteneinnahme waren Ausschlusskriterien und wurden im Rahmen einer Voruntersuchung anamnestisch ausgeschlossen. Zusätzlich wurden Routineparameter aus dem Blut bestimmt (kleines Blutbild, Elektrolyte, Osmolalität, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, HDL und LDL-Cholesterin sowie Triglyceride, γ -GT, TSH basal und Nüchternblutzucker). Außerdem durften die Versuchspersonen nicht rauchen und mussten einen normalen Schlaf-Wach-Rhythmus haben. Die Studie wurde durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Lübeck zugelassen (Aktenzeichen 03-159).

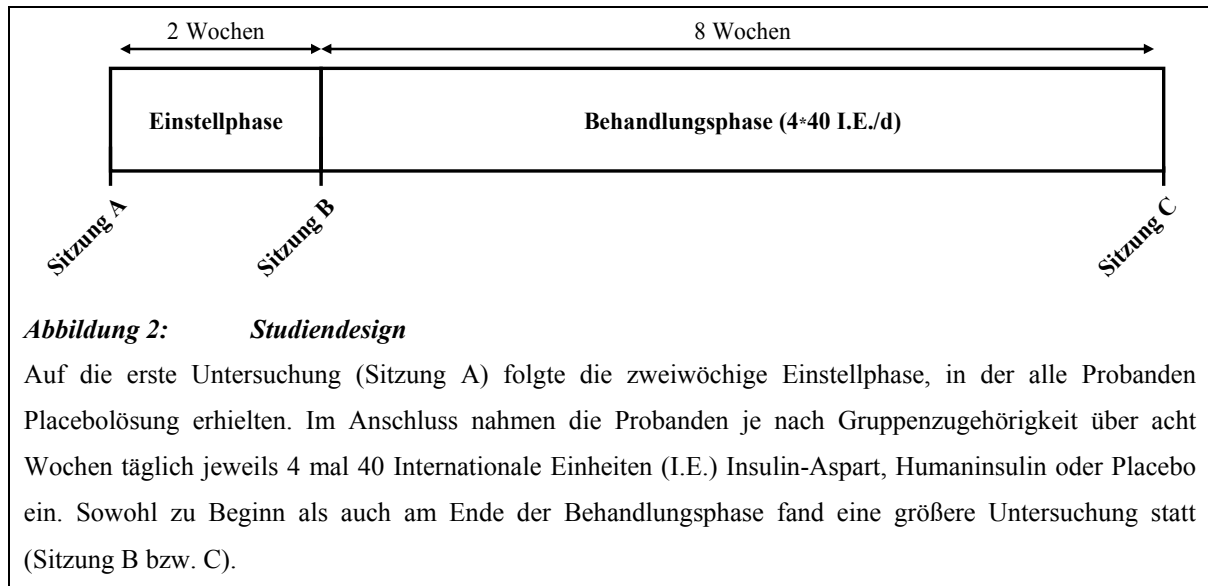
Im Rahmen der Voruntersuchung wurden die Probanden umfassend mündlich und schriftlich über den Ablauf der Studie und eventuelle Nebenwirkungen der Behandlung aufgeklärt. Um die Probanden nicht in die Hypothesen einzuweißen, wurde den Versuchspersonen suggeriert, es ginge in dieser Studie um den Nachweis einer Gedächtnisverbesserung durch die intranasale Insulingabe. Teilnehmen konnten die Versuchspersonen erst, nachdem sie eine Einverständniserklärung unterzeichnet hatten.

2.2 Studiendesign

Die Studie erstreckte sich über 10 Wochen, wobei die ersten beiden Wochen als Einstellphase der achtwöchigen Behandlungsphase vorausgingen (siehe Abbildung 2).

Während der Einstellphase enthielt das Nasenspray aller Probanden Placebolösung (HOE 31 Lösungspuffer für Human-Insulin, Aventis Pharma, Bad Soden). In der Behandlungsphase erhielten jeweils zwölf Probanden entweder Placebolösung, Insulin Aspart (Insulin Novorapid® HM, Novo Nordisk, Mainz) oder Humaninsulin (Insulin Actrapid® HM, Novo Nordisk, Mainz). Die Gruppenzuteilung erfolgte randomisiert nach Alter und BMI und doppelt-verblindet.

Die Probanden wurden angewiesen, ihr Nasenspray viermal pro Tag anzuwenden. Die erste Einnahme sollte morgens direkt nach dem Aufstehen erfolgen. Die zweite Einnahme fand mittags zwischen 11 Uhr und 13 Uhr statt, ein drittes Mal sollte das Spray zwischen 18 Uhr und 20 Uhr eingenommen werden und die letzte Applikation des Tages sollte direkt vor dem Schlafengehen erfolgen. Jede Sprayeinnahme umfasste zwei Hübe pro Nasenloch, wobei ein Hub 10 I.E. (0,1 ml) Insulin Aspart (bzw. Placebo oder Humaninsulin) enthielt. Somit ergab sich während der Behandlungsphase eine tägliche Insulindosis von 160 I.E.. Um die Zuverlässigkeit der Probanden zu erhöhen, sollten die genauen Einnahmenzeiten, sowie eventuell ausgefallene Einnahmen und Unwohlsein von den Versuchspersonen auf einer Check-Liste dokumentiert und bei den wöchentlichen Untersuchungen abgegeben werden. Die Probanden wurden angehalten, ihr Nasenspray zwischen den Einnahmen im Kühlschrank bei + 4 °C zu lagern.

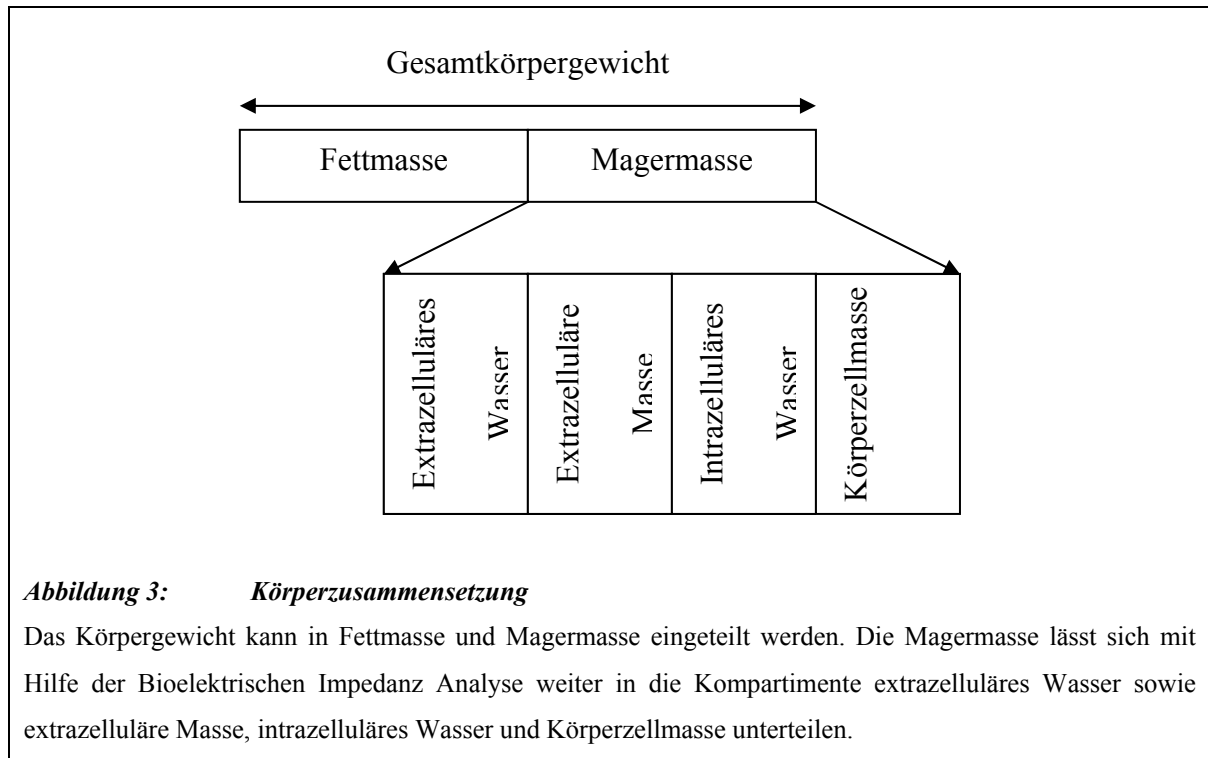


2.3 Wöchentliche Kontrolluntersuchungen

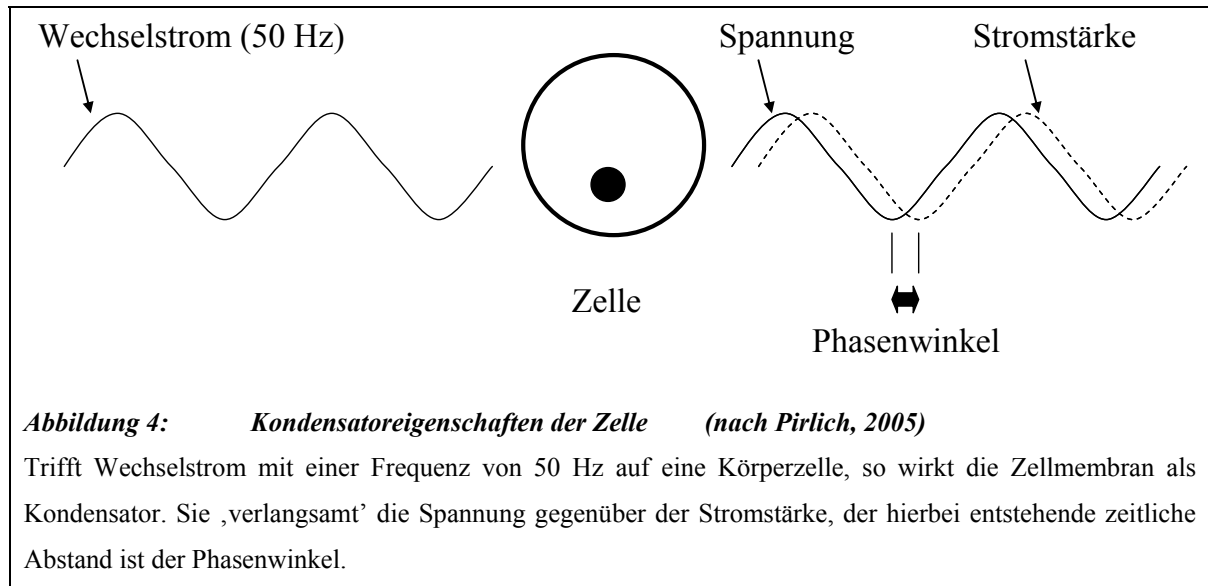
Einmal wöchentlich wurden die Probanden zur Vergabe des Sprays für die folgende Woche und zur Durchführung von Kontrolluntersuchungen einbestellt. Am Morgen vor einer Untersuchung sollten die Versuchspersonen kein Nasenspray einnehmen, sowie auf Essen und Trinken verzichten. Außerdem sollten sie am Vorabend keinen Alkohol zu sich nehmen und sich nicht stark körperlich betätigen. In der Nacht vor einer Untersuchung sollten sie ausreichend geschlafen haben. Die Untersuchungen fanden möglichst immer am gleichen Wochentag morgens zwischen 6.30 Uhr und 8.30 Uhr statt. Zuerst wurde mittels einer Digitalwaage (Dario Markenartikelbetrieb GmbH, Hamburg) das Gewicht der Probanden bestimmt. Im Anschluss erfolgte mit einem Maßband die Messung des Taillenumfanges auf Höhe des Bauchnabels. Zur Körperzusammensetzungsmessung wurde danach eine phasensensitive, multifrequente Bioelektrische Impedanz Analyse (BIA; Nutrigard 2000–M der Firma Data Input GmbH, Frankfurt) durchgeführt. Bei der BIA handelt es sich um eine Methode zur Bestimmung der Körperzusammensetzung mit Hilfe von Körperwiderstandsmessungen. Mit der in dieser Studie verwendeten phasensensitiven multifrequenten Frequenzanalyse ist die Unterscheidung von fünf Körperkompartimenten

möglich (siehe Abbildung 3). Körperfettmasse und Körpermagermasse machen die Hauptkompartimente aus. Als Körpermagermasse wird der fettfreie Anteil des Körpers bezeichnet. Sie wird zum größten Teil durch die Muskulatur, die inneren Organe, das Skelettsystem und das Zentrale Nervensystem gebildet. Sie lässt sich weiter in extrazelluläre Masse und extrazelluläres Wasser, sowie Körperzellmasse und intrazelluläres Wasser unterteilen. Die Körperzellmasse stellt die Menge aller stoffwechselaktiven Zellen dar. Sie wird hauptsächlich durch die quergestreifte Muskulatur gebildet. Aber auch glatte Muskulatur und Herzmuskelgewebe zählen zu diesem Kompartiment, weiterhin das Parenchym der inneren Organe, die zellulären Bestandteile des Blutes und des Nervensystems. Binde- und Stützgewebe bilden zusammen mit der Haut und dem Skelettsystem die Extrazellulärmasse. Zum Gesamtkörperwasser zählen extra- und intrazelluläres Wasser, noch nicht resorbierte Flüssigkeit im Gastrointestinaltrakt wird hingegen nicht erfasst. Es wird zum Großteil durch das Wasser der Körperzellmasse gebildet und ist somit stark von der Muskelmasse abhängig.

Zunächst erfolgt die Bestimmung des Gesamtkörperwassers über die Messung der Resistance. Als Resistance wird der Ohmsche Widerstand eines elektrischen Leiters gegen Wechselstrom bezeichnet, dieser ist umgekehrt proportional zur Menge des Gesamtkörperwassers. Die Magermasse beträgt beim gesunden euhydrierten Menschen sehr konstant 73 Prozent des Gesamtkörperwassers und lässt sich so aus diesem berechnen (Segal et al., 1988). Fettgewebe hat wegen seines geringen Wassergehalts einen hohen Widerstand und wird bei der BIA nicht direkt erfasst. Die Fettmasse wird daher indirekt aus der Differenz von Körpergewicht und Magermasse bestimmt.



Eine weitere Unterteilung der Magermasse in Körperzellmasse und extrazelluläre Masse wird über die Berechnung des Phasenwinkels ermöglicht. Beim Fluss von Wechselstrom durch den Körper wirkt die Zellmembran jeder einzelnen Körperzelle als Kondensator. Sie führt zu einer ‚Verlangsamung‘ der Spannung gegenüber der Stromstärke, die Sinusschwingungen von Stromstärke und Spannung verlaufen also nicht mehr synchron. Der zeitliche Abstand zwischen beiden Schwingungen wird als Phasenwinkel bezeichnet (siehe Abbildung 4). Dieser hat seine größte Aussagekraft bei der Messung mit 50 kHz. Die Kondensatoreigenschaft aller Körperzellen zusammen wird als Reactance bezeichnet, über diese lässt sich die Körperzellmasse bestimmen.



Zusätzlich zur Messung bei 50 kHz erfolgten Messungen bei 5 kHz. Bei dieser Frequenz dringt der Strom nicht in die Körperzellen ein und eine Analyse des Extrazellulärraums ist möglich, so erfolgt die Erfassung des extrazellulären Wassers. Die Menge des Intrazellulärwassers ergibt sich als Differenz aus Gesamtkörperwasser und extrazellulärem Wasser. Die Durchführung der BIA erfolgte nach den Anweisungen des Kompendiums der Firma Data Input. Wie angegeben waren die Probanden nüchtern, haben am Vorabend keinen Sport getrieben und keinen Alkohol zu sich genommen. Die Messung erfolgte in Rückenlage, welche die Probanden bereits einige Minuten vor Beginn der Messung eingenommen hatten. Die Beine lagen in einem Winkel von 45 Grad auseinander, die Arme wurden in einem ungefähren Winkel von 30 Grad abgespreizt. Die Haut an Fuß und Hand der dominanten Körperhälfte des Probanden wurde desinfiziert. Anschließend wurden dort jeweils zwei Bioimpedanzelektroden der Firma Data Input aufgeklebt und die Messkabel, wie im Kompendium angegeben, angebracht. Weder die Kabel, noch der Körper des Probanden hatten Kontakt zum metallischen Bettgestell (Dörhöfer, 2005).

Nach der Bestimmung der Körperzusammensetzung erfolgte beim liegenden Probanden die Messung von Blutdruck und Herzrate mit dem digitalen Blutdruckmessgerät

boso-medicus (Bosch+Sohn GmbH, Jungingen), dreimal nacheinander wurde am linken Arm gemessen und dann der Mittelwert bestimmt. Es folgte eine Blutentnahme, aus welcher Routineparameter und Hormonkonzentrationen bestimmt wurden (siehe Punkt 2.5.). Nach Abschluss aller Untersuchungen erhielten die Probanden ihre neue Nasensprayflasche und holten die morgendliche Einnahme für diesen Tag nach.

2.4 Hauptuntersuchungen

Insgesamt fanden drei zweistündige Untersuchungen statt, die erste am Beginn der zweiwöchigen Einstellphase (Sitzung A), die zweite zum Start der Behandlungsphase (Sitzung B) und die dritte am Ende der zehnten Studienwoche (Sitzung C) (siehe Abbildung 2).

Die Hauptuntersuchungen fanden ebenfalls im Zeitfenster zwischen 6.30 Uhr und 8.30 Uhr statt, und die Probanden sollten wie bei den wöchentlichen Untersuchungen nüchtern erscheinen, und am Vorabend auf Alkohol und Sport verzichten und ausreichend geschlafen haben. Gleich zu Beginn des Termins erfolgte die Einnahme des Nasensprays. Dann wurden, wie bei den wöchentlichen Untersuchungen, Gewicht und Taillenumfang gemessen und eine Bioelektrische Impedanz Analyse durchgeführt. Blutdruck und Herzfrequenzmessung, sowie Blutentnahme erfolgten erst 60 Minuten nach der Sprayeinnahme.

Bei der ersten großen Untersuchung (Sitzung A) enthielt das Nasenspray aller Versuchspersonen Placebolösung. Dieser Termin diente dazu, die Probanden mit dem Versuchsablauf vertraut zu machen. Zu Beginn der zweiten großen Untersuchung erhielten die Probanden entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit Insulin Aspart, Humaninsulin oder Placebo. Bei diesem Termin wurden die akuten Einflüsse der intranasalen Insulingabe auf die Hormonkonzentration der unter 2.5. genannten Hormone und die

Blutglukosekonzentration untersucht. In der Sitzung C erhielten alle Probanden Placebonasenspray, dieser Termin diente als Abschlussuntersuchung zur Messung der Effekte der achtwöchigen Insulingabe.

Zusätzlich zu den genannten körperlichen Untersuchungen wurden bei diesen drei Untersuchungsterminen Gedächtnistests durchgeführt, so konnte das unter 2.1 erwähnte angebliche Hauptstudienziel der Gedächtnisverbesserung durch Insulin den Probanden glaubhaft vermittelt werden.

Bei der letzten der elf Untersuchungen wurden die Probanden nach ihrer Vermutung bezüglich der Gruppenzugehörigkeit zur Insulingruppe oder zur Kontrollgruppe befragt.

2.5 Blutentnahmen

Bei jeder Untersuchung wurde aus der Ellenbeuge Blut entnommen. Das Institut für Klinische Chemie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein Campus Lübeck bestimmte hieraus folgende Parameter: kleines Blutbild, Elektrolyte, Osmolalität, HDL- und LDL-Cholesterin, Triglyceride, Kreatinin, Harnsäure, Harnstoff, γ -GT sowie Blutglukose. Jeweils ein Plasmaröhrchen und ein Serumröhrchen wurden 5 Minuten bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert. Der Überstand wurde in Eppendorfgläser pipettiert und zunächst bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert, um später aus dem Serum die Konzentration an Insulin, Leptin, Testosteron und *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1) zu bestimmen. Im Plasma wurde die ACTH-Konzentration gemessen.

2.6 Statistische Auswertung

Die Werte der Einstellphase dienten als Referenzwerte. Sie wurden von den Messergebnissen der Behandlungsphase subtrahiert. Die statistische Auswertung erfolgte mittels einer einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA, Faktor: Behandlung). Wurde dabei

ein statistisch signifikanter Effekt festgestellt, erfolgte eine paarweise Auswertung mit Hilfe von T-Tests.

3 Ergebnisse

3.1 Körpergewicht und Bauchumfang

Tabelle 1: Auswirkungen auf Körpergewicht und Bauchumfang

		Insulin Aspart	Humaninsulin	Placebo
Körpergewicht (kg)	Sitzung B	76.12 ± 2.31	79.23 ± 1.84	79.65 ± 1.53
	Sitzung C	75.51 ± 2.35	77.86 ± 1.78	80.10 ± 1.71
	Δ	-0.61 ± 0.49 ^(p)	-1.37 ± 0.70 ^p	0.45 ± 0.47
Bauchumfang (cm)	Sitzung B	89.42 ± 1.16	82.60 ± 1.71	82.89 ± 1.21
	Sitzung C	87.30 ± 1.20	80.98 ± 1.32	83.51 ± 1.02
	Δ	-2.12 ± 0.73 ^p	-1.63 ± 1.17 ^p	0.62 ± 0.88

Tabelle 1 zeigt die Auswirkungen der achtwöchigen intranasalen Applikation von Insulin Aspart, Humaninsulin und Placebo auf das Körpergewicht und den Bauchumfang. Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung. Die Werte wurden nach der ersten Gabe von 40 I.E. Humaninsulin, 40 I.E. Insulin Aspart oder Placebo am Beginn der Behandlungsphase und am Ende der Behandlung mit jeweils 4x40I.E./d Humaninsulin, Insulin Aspart oder Placebo gemessen. Aus den zu Beginn (Sitzung B) und nach Abschluss der Behandlungsphase (Sitzung C) bestimmten Werten wurde die Differenz gebildet (Δ). (p) steht für einen schwach signifikanten p-Wert < 0,1 beim Vergleich von Humaninsulin oder Insulin Aspart mit Placebo. „p“ steht für p < 0,05 und gilt als signifikant.

3.1.1 Körpergewicht

Die intranasale Gabe von Insulin über acht Wochen führte zu einer signifikanten (p<0,05) Gewichtsreduktion in der Humaninsulin Gruppe (HI-Gruppe) von -1.37 ± 0.70 kg im Vergleich zur Kontrollgruppe (0.45 ± 0.47 kg). Die Gewichtsabnahme von -0.61 ± 0.49 kg der Insulin Aspart Gruppe (IAsp-Gruppe) war dagegen im Vergleich zur Placebogruppe nur schwach signifikant (p<0,1).

3.1.2 Bauchumfang

Sowohl die HI-Gruppe als auch die IAsp-Gruppe zeigten eine signifikante Abnahme des Bauchumfangs ($p < 0,05$) im Vergleich zur Placebogruppe. Bei der HI-Gruppe betrug diese -1.63 ± 1.17 cm, bei der IAsp-Gruppe -2.12 ± 0.73 cm. Vergleicht man die Ergebnisse der beiden Insulingruppen untereinander, zeigt sich kein signifikanter Unterschied.

3.2 Körperzusammensetzung

Tabelle 2: Auswirkungen auf die Körperzusammensetzung

		Insulin Aspart	Humaninsulin	Placebo
Körperfettmasse (kg)	Sitzung B	13.53 ± 0.90	14.14 ± 1.05	13.04 ± 1.15
	Sitzung C	10.86 ± 0.88	12.76 ± 1.10	13.61 ± 1.27
	Δ	$-2.67 \pm 0.69^{pp, (r)}$	-1.38 ± 0.59^p	0.57 ± 0.61
Körpermagermasse (kg)	Sitzung B	62.59 ± 2.00	65.08 ± 1.77	66.61 ± 1.28
	Sitzung C	64.65 ± 1.95	65.09 ± 1.74	66.49 ± 1.36
	Δ	$2.06 \pm 0.55^{pp, r}$	0.01 ± 0.73	-0.12 ± 0.50
Körperzellmasse (kg)	Sitzung B	34.77 ± 1.52	37.19 ± 0.92	37.41 ± 0.96
	Sitzung C	36.68 ± 1.53	37.32 ± 0.93	37.39 ± 0.95
	Δ	$1.90 \pm 0.59^{p, r}$	0.13 ± 0.40	-0.02 ± 0.46
Extrazellulärmasse (kg)	Sitzung B	27.82 ± 0.72	27.89 ± 0.97	29.20 ± 0.73
	Sitzung C	27.97 ± 0.65	27.77 ± 0.90	29.10 ± 0.60
	Δ	0.15 ± 0.26	-0.12 ± 0.47	-0.10 ± 0.45
Gesamtkörper- wasser (kg)	Sitzung B	45.81 ± 1.46	47.64 ± 1.30	48.77 ± 0.94
	Sitzung C	47.33 ± 1.43	47.40 ± 1.25	48.67 ± 0.99
	Δ	$1.52 \pm 0.40^{pp, rr}$	-0.25 ± 0.48	-0.10 ± 0.37

		Insulin Aspart	Humaninsulin	Placebo
Intrazelluläres Wasser (kg)	Sitzung B	27.16 ± 0.93	28.44 ± 0.74	28.82 ± 0.56
	Sitzung C	27.82 ± 0.91	28.31 ± 0.71	28.85 ± 0.61
	Δ	0.66 ± 0.20 ^{p, r}	-0.13 ± 0.29	0.03 ± 0.18
Extrazelluläres Wasser (kg)	Sitzung B	18.65 ± 0.55	19.20 ± 0.59	19.95 ± 0.41
	Sitzung C	19.51 ± 0.53	19.08 ± 0.57	19.82 ± 0.42
	Δ	0.86 ± 0.22 ^{pp, rr}	-0.12 ± 0.24	-0.13 ± 0.21

Tabelle 2 zeigt die Auswirkungen der intranasalen Insulingabe auf die Körperzusammensetzung. Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichung. Die Werte wurden nach der ersten Gabe von 40 I.E. Humaninsulin, 40 I.E. Insulin Aspart oder Placebo zu Beginn der Behandlungsphase und am Ende der Behandlung mit jeweils 4x40I.E./d Humaninsulin, Insulin Aspart oder Placebo gemessen.

Aus den zu Beginn und nach Abschluss der Behandlungsphase bestimmten Werten wurde die Differenz gebildet (Δ). Folgende P-Werte sind angegeben: ‚r‘ bzw. ‚rr‘ steht für die p-Werte des Vergleichs von Insulin Aspart mit Humaninsulin, ‚r‘ entspricht $p < 0,05$ und gilt als signifikant, ‚rr‘ entspricht $p < 0,01$ und gilt als hochsignifikant. (p) steht für einen schwach signifikanten p-Wert $< 0,1$ beim Vergleich von Humaninsulin oder Insulin Aspart mit Placebo. ‚p‘ steht für $p < 0,05$ und gilt als signifikant, ‚pp‘ steht für $p < 0,01$ und gilt als hochsignifikant.

3.2.1 Körperfettmasse

Nach der achtwöchigen Behandlung zeigten beide Insulingruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikante Abnahme der Körperfettmasse (IAsp: - 2.67 ± 0.69 kg, $p < 0,01$; HI: - 1.38 ± 0.59 kg, $p < 0,05$; Placebo: 0.57 ± 0.61 kg). Dabei überragte die Abnahme der Körperfettmasse der IAsp-Gruppe tendenziell die der HI-Gruppe ($p < 0,1$) (siehe auch Abbildung 5).

3.2.2 Körpermagermasse

Die Magermasse nahm bei den mit Insulin Aspart behandelten Probanden um 2.06 ± 0.55 kg zu. Die Zunahme war sowohl im Vergleich zur HI-Gruppe (0.01 ± 0.73 kg) als auch zur Kontrollgruppe (-0.12 ± 0.50 kg; $p < 0.05$ bzw. $p < 0.01$) signifikant.

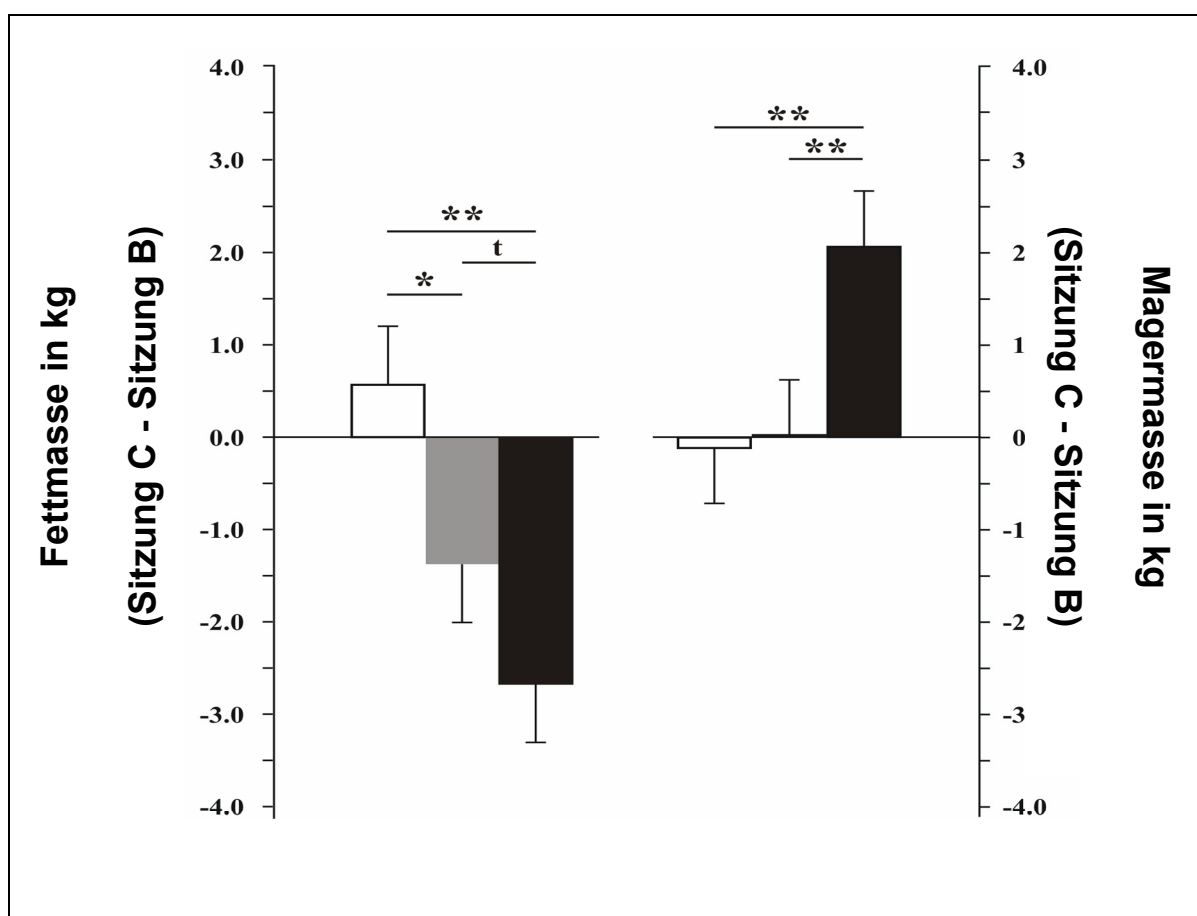


Abbildung 5: *Auswirkungen auf Fettmasse und Magermasse*

Dargestellt sind die Auswirkungen achtwöchiger intranasaler Applikation von Humaninsulin (HI, grauer Balken), Insulin Aspart (schwarzer Balken) und Placebo (weißer Balken) auf die Fettmasse (linkes Diagramm) und auf die Magermasse (rechtes Diagramm).

Die Änderungen der Fettmasse und der Magermasse wurden wie folgt berechnet: Die Werte der zweiten Sitzung, welche zum Beginn der Behandlungsphase stattfand, wurden von denen der dritten Sitzung, welche am Ende der achtwöchigen intranasalen Insulin Aspart bzw. Humaninsulineinnahme stattfand, subtrahiert. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung. Als signifikant gilt $p < 0.05 = *$, hochsignifikant ist $p < 0.01 = **$; t gibt einen tendenziellen Effekt beim Vergleich von Humaninsulin und Insulin Aspart an.

3.2.3 Körperzellmasse

Bei der IAsp-Gruppe nahm die Körperzellmasse um 1.90 ± 0.59 kg zu, was sowohl gegenüber der Kontrollgruppe (-0.02 ± 0.46 kg), als auch gegenüber der HI-Gruppe (0.13 ± 0.40 kg) signifikant ist ($p < 0,05$).

3.2.4 Extrazellulärmasse

Die Auswertung der Extrazellulärmassenentwicklung erbrachte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der einzelnen Gruppen.

3.2.5 Gesamtkörperwasser

Das Gesamtkörperwasser stieg in der IAsp-Gruppe um 1.52 ± 0.40 kg an, was gegenüber den Werten der Kontrollgruppe (-0.10 ± 0.37 kg) und auch gegenüber den Werten der HI-Gruppe (-0.25 ± 0.48 kg) einen hochsignifikanten Anstieg bedeutet ($p < 0,01$).

3.2.6 Intrazellulärwasser

In der IAsp-Gruppe konnte eine Zunahme des Intrazellulärwassers um 0.66 ± 0.20 kg festgestellt werden. Dies stellt eine signifikante Zunahme ($p < 0,05$) im Vergleich zu den Werten der Placebogruppe (0.03 ± 0.18 kg) ebenso wie zu den Ergebnissen der HI-Gruppe (-0.13 ± 0.29 kg) dar.

3.2.7 Extrazellulärwasser

Das Extrazelluläre Wasser der Probanden der IAsp-Gruppe stieg um 0.86 ± 0.22 kg an, was ebenfalls einen hochsignifikanten Anstieg ($p < 0,01$) gegenüber der Kontrollgruppe (-0.13 ± 0.21 kg) und der HI-Gruppe (-0.12 ± 0.24 kg) darstellt.

3.3 Plasmaglukose und Hormonkonzentrationen

Tabelle 3: Auswirkungen auf Plasmaglukose und Hormonkonzentrationen

		Insulin Aspart	Humaninsulin	Placebo
Plasmaglukose (mmol/l)	Sitzung A	4.89 ± 0.17	4.89 ± 0.13	4.89 ± 0.17
	Sitzung B	4.67 ± 0.09	4.82 ± 0.03	4.68 ± 0.12
	Sitzung C	4.90 ± 0.10	4.90 ± 0.09	4.70 ± 0.12
Seruminsulin (µU/ml)	Sitzung A	6.70 ± 1.51	6.70 ± 0.69	6.70 ± 1.14
	Sitzung B	4.17 ± 0.72	7.32 ± 0.59	7.37 ± 1.43
	Sitzung C	4.95 ± 1.25	6.47 ± 0.72	6.54 ± 0.88
Leptin (µg/l)	Sitzung A	3.49 ± 0.44	3.49 ± 0.29	3.49 ± 0.52
	Sitzung C	2.34 ± 0.55 ^p	2.72 ± 0.12 ^p	3.62 ± 0.47
IGF-1 (ng/ml)	Sitzung A	214.97 ± 20.80	214.97 ± 27.97	214.97 ± 22.87
	Sitzung C	210.24 ± 20.32	178.44 ± 16.72	208.63 ± 21.96
Testosteron (nmol/l)	Sitzung A	18.45 ± 1.35	18.45 ± 1.50	18.45 ± 0.87
	Sitzung C	17.59 ± 1.05	19.42 ± 1.35	17.54 ± 1.04

Gezeigt sind die Auswirkungen der achtwöchigen intranasalen Applikation von Insulin Aspart, Humaninsulin und Placebo auf die Plasmaglukosekonzentration und verschiedene Hormonkonzentrationen.

Unter A sind die Ergebnisse der Blutentnahmen nach der ersten intranasalen Gabe von Placebo zum Beginn der Einstellphase angegeben. Unter B stehen die Ergebnisse der Blutentnahme, welche nach der ersten Gabe von 40 I.E. Insulin Aspart, 40 I.E. Humaninsulin oder Placebo zum Beginn der Behandlungsphase durchgeführt worden ist. Zeile C zeigt die Ergebnisse der Blutentnahmen nach Abschluss der achtwöchigen Behandlung. Alle Daten sind Mittelwerte ± Standardabweichung. Die angegebenen p-Werte beziehen sich auf den Vergleich von Insulin Aspart oder Humaninsulin mit Placebo, wobei ‚p‘ für p<0,05 steht und als signifikant gilt.

3.3.1 Plasmaglukose und Seruminsulin

Die Plasmaglukosekonzentration und der Seruminsulinspiegel blieben durch die intranasale achtwöchige Applikation von Insulin Aspart oder Humansinsulin unbeeinflusst. Es zeigten sich weder in den Akutergebnissen, noch in den Ergebnissen nach Langzeitapplikation signifikante Unterschiede der beiden Wirkstoffgruppen im Vergleich zur Kontrollgruppe.

3.3.2 Leptin

Die Konzentration an Leptin im Blut nahm bei der Insulin Aspart Gruppe auf $2.34 \pm 0.55 \mu\text{g/l}$ ab, was einer signifikanten Abnahme gegenüber der Placebogruppe entspricht ($3.62 \pm 0.47 \mu\text{g/l}$, $p < 0,05$). Gegenüber der Leptinkonzentration der Humaninsulingruppe ($2.72 \pm 0.12 \mu\text{g/l}$) zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Auch bei der Humaninsulingruppe zeigte sich eine signifikante Abnahme der Leptinkonzentration im Vergleich zu Kontrollgruppe.

3.3.3 Insulin-like growth factor 1

Bei der Auswertung des *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen der einzelnen Versuchsgruppen.

3.3.4 Testosteron

Es konnten keine Auswirkungen der achtwöchigen Insulingabe auf die Testosteronkonzentration nachgewiesen werden.

3.4 Blutdruck und Blutparameter

Eine Beeinflussung des Blutdrucks oder der unter 2.5. angegebenen Blutparameter wurde nicht festgestellt.

4 Diskussion

In Übereinstimmung mit vorherigen Studien bestätigen die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation eine gewichtsmodulierende Wirkung von zentralnervösem Insulin. Im Vergleich zu Humaninsulin führt die achtwöchige intranasale Gabe des Insulinmonomers Insulin Aspart zu einer deutlicheren Reduktion der Körperfettmasse. Weiterhin konnte eine Zunahme der Magermasse nach intranasaler Behandlung mit Insulin Aspart beobachtet werden. Diese Ergebnisse deuten somit darauf hin, dass die intranasale Gabe von Insulin ein viel versprechender Ansatz in der Adipositas therapie sein könnte. Weiterhin lässt die Zunahme der Magermasse nach Behandlung mit Insulin Aspart vermuten, dass der Einsatz eines Insulinmonomers möglicherweise einen zusätzlichen therapeutischen Nutzen erbringt.

Die intranasale Applikation von Insulin führt ebenso wie die intrazerebroventrikuläre Injektion zu einem Gewichtsverlust. Diese katabole Wirkung des Insulins ist bereits vielfach beschrieben und auch aus den vorliegenden Ergebnissen ersichtlich (Woods *et al.*, 1979; Hallschmid *et al.*, 2004b). Allerdings fällt der Gewichtsverlust in der Insulin Aspart Gruppe (IAsp-Gruppe) nur schwach signifikant aus und ist entgegen der aufgestellten Hypothese kleiner als der beobachtete Gewichtsverlust in der Humaninsulin Gruppe (HI-Gruppe). Diese Ergebnisse lassen zunächst eine geringere zentrale Wirkung des Insulins nach intranasaler Gabe von Insulin Aspart vermuten. Bei der Auswertung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanz Analyse (BIA) zeigte sich allerdings, dass in der IAsp-Gruppe eine hochsignifikante Abnahme des Körperfettgehalts erzielt wurde. Dieser Effekt ist auch im Vergleich zur Abnahme an Körperfett der HI-Gruppe tendenziell signifikant und deutet somit, anders als die alleinige Betrachtung des Körpergewichts, auf eine stärkere zentrale Wirkung des Insulin Asparts

hin. Ein zunehmender Körperfettanteil trägt maßgeblich zur Entstehung des metabolischen Syndroms bei (Vega *et al.*, 2006). Zwar korreliert ein erhöhter Körperfettanteil meist auch mit einer Gewichtszunahme, jedoch nicht zwingend (Deurenberg-Yap, 2000). Insbesondere kann nicht zuverlässig bei einem erhöhten Körpergewicht auf einen Anstieg des Körperfettanteils geschlossen werden (Segal *et al.*, 1987, Janssen *et al.*, 2004). Somit ist besonders im Hinblick auf einen möglichen therapeutischen Einsatz eines Insulinnasensprays im Rahmen der Adipositas therapie die Betrachtung des Körperfettgehaltes von Bedeutung. Die Reduktion der Körperfettmasse und des Körpergewichts erreicht Insulin wahrscheinlich zum Großteil durch eine Abnahme der täglichen Nahrungsaufnahme. Darauf deuten verschiedene Tierstudien hin (Woods *et al.*, 1979; Foster *et al.*, 1991). Hallschmid *et al.* verwendeten zur Objektivierung des Hungergefühls beim Menschen eine Skala von 1 bis 10, auf der die Probanden ihr Hungergefühl einordnen sollten (Hallschmid *et al.*, 2004b). Dabei stellten sie eine tendenzielle Abnahme des Hungergefühls während der achtwöchigen intranasalen Insulingabe fest. Benedict *et al.* zeigten, dass bereits nach der einmaligen intranasalen Gabe von 160 I.E. die anschließende Nahrungsaufnahme männlicher Probanden vermindert ist (Benedict *et al.* 2008).

Neben dem Körperfettgehalt zeigt auch der Taillenumfang eine hohe Korrelation mit dem metabolischen Risiko, er bildet insbesondere den Gehalt an viszeralem Fett ab (Vega *et al.*, 2006). Es konnte gezeigt werden, dass auch der Taillenumfang in beiden Behandlungsgruppen signifikant abnahm, wodurch die positive Beeinflussung der Körperzusammensetzung durch die intranasale Insulinapplikation untermauert wird.

Ebenso passen die Ergebnisse der Auswertung der Leptinkonzentrationen zu einer Reduktion der Körperfettmasse. Leptin wird in den Fettzellen gebildet, folglich verhält sich seine Konzentration im Plasma proportional zur Körperfettmasse. Es gilt neben Insulin als

zweites Adipositassignal und ist ein besonders guter Prädiktor für den Gehalt an subkutanem Fett (Masuzaki *et al.*, 1995; Niswender und Schwartz, 2003). Wohingegen die basalen Seruminsulinspiegel eher den Gehalt an viszeralem Fett abbilden (Stockhorst *et al.*, 2004). Bei unseren Untersuchungen zeigte sich eine signifikante Abnahme der Leptinkonzentrationen sowohl nach Behandlung mit Insulin Aspart, als auch nach der Gabe von Humaninsulin. Diese Abnahme ist auf die deutliche Reduktion der Körperfettmasse in beiden Gruppen zurückzuführen. Allerdings senkte Insulin Aspart den Leptinspiegel im Plasma nicht signifikant stärker als Humaninsulin. Eventuell ist die hochsignifikante Körperfettabnahme bei den mit Insulin Aspart behandelten Probanden durch eine zusätzliche Abnahme des viszeralen Fettes zu erklären.

Die weitere Analyse der Körperzusammensetzung nach Abschluss der achtwöchigen Behandlungsphase liefert eine mögliche Erklärung dafür, warum das Körpergewicht in der IAsp-Gruppe nur geringfügig im Vergleich zur Placebogruppe reduziert war. So nahm die Körpermagermasse in der IAsp-Gruppe signifikant zu. Die Körpermagermasse umfasst den fettfreien Teil des Körpers. Sie setzt sich aus Körperzellmasse, intrazellulärem Wasser, Extrazellulärmasse und extrazellulärem Wasser zusammen. Die Körperzellmasse wird zum größten Teil von der Skelettmuskulatur gebildet, bei den Probanden der IAsp-Gruppe nahm dieses Kompartiment signifikant zu. In Übereinstimmung hiermit nahm auch das intrazelluläre Wasser zu, welches hauptsächlich in den Muskelzellen gespeichert ist. In dieser Zunahme an Muskelmasse ist wahrscheinlich der insgesamt geringere Gewichtsverlust begründet. Eine Auswirkung von zentral appliziertem Insulin auf die Muskelmasse ist in vorangegangenen Studien noch nicht beobachtet worden. Mögliche Ursachen für die Zunahme der Muskelmasse sind beispielsweise eine Beeinflussung zentralnervöser Prozesse, die eine vermehrte Freisetzung anabol wirkender Botenstoffe zur Folge hat oder eine Steigerung der

körperlichen Aktivität der Probanden. Bekanntestes anabol wirkendes Hormon ist das Testosteron, welches die Nukleinsäure- und Proteinsynthese aktiviert (Herbst und Bhasin, 2004). Nachträglich erfolgte die Bestimmung der Testosteronkonzentrationen, um durch einen eventuellen Anstieg des Testosterons die Zunahme an Muskelmasse erklären zu können. Bei der Auswertung zeigte sich allerdings kein Einfluss der Insulingabe auf die Testosteronkonzentration im Serum. Als weiteren möglichen Botenstoff untersuchten wir den *Insulin-like growth factor 1* (IGF-1). Hierbei handelt es sich um ein Polypeptid, welches zum Großteil in der Leber gebildet wird. Seine Freisetzung erfolgt unter Einwirkung des somatotrophen Hormons der Hypophyse, aber auch Insulin stimuliert die Synthese von IGF-1 (Laron, 2001). IGF-1 steuert das Wachstum verschiedener Gewebe, im Rahmen unserer Studie ist seine positive Wirkung auf die Proliferation von Muskelzellen interessant (Engert *et al.*, 1996). Aber auch die Konzentration des IGF-1 blieb während der zehn Studienwochen in allen drei Versuchsgruppen unverändert und liefert daher keine Erklärung für die Zunahme der Körpermagermasse. Als weitere Ursache des beobachteten Muskelaufbaus kommt eine gesteigerte körperliche Aktivität während der Behandlung mit Insulin Aspart in Betracht. Benedict *et al.* wiesen mit Hilfe von Fragebögen eine positive Beeinflussung des allgemeinen Wohlbefindens unter der Gabe von Humaninsulin nach (Benedict *et al.*, 2004). Eventuell wird über diese stimmungsaufhellenden Effekte auch das Aktivitätsverhalten der Probanden positiv beeinflusst. Verschiedene Folgeeffekte können im Zusammenhang mit einer Zunahme an Muskelmasse diskutiert werden. So ist wahrscheinlich, dass eine Zunahme der Muskelmasse mit einer gesteigerten Insulinsensitivität einhergeht (Brooks *et al.*, 2006). Die Auswertung der gemessenen Plasmaglukose und Seruminsulinspiegel der Probanden bestätigen diese Theorie zwar nicht, trotzdem bleibt eine solche Beeinflussung denkbar. Zur weiteren Untersuchung wäre die Messung der Insulinsensitivität mittels

euglykämischem *Clamp* nötig. Viele Diäten betrachten allein eine Abnahme des Körpergewichts als Ziel. Insbesondere bei einer alleinigen Reduktion der Kalorienaufnahme wird dieses Ziel nicht nur durch eine Abnahme des Körperfettes erreicht, sondern auch durch einen Verlust an Muskelmasse (Tsai *et al.*, 2003; Weiss *et al.*, 2007). Der gewichtsreduzierende Effekt vieler Diäten ist von kurzer Dauer, weshalb auch das kardiovaskuläre Risikoprofil langfristig nicht verbessert wird (Wing und Phelang, 2005). Es ist anzunehmen, dass durch die Zunahme der Muskelmasse ein längerfristiger Effekt zu erreichen ist, als durch eine alleinige Reduktion an Körperfett. Die Extrazellulärmasse des Körpers umfasst Binde- und Stützgewebe und blieb in allen Gruppen unbeeinflusst. Das Gesamtkörperwasser nahm in der Insulin Aspart Gruppe deutlich zu, wobei sowohl der intrazelluläre, als auch der extrazelluläre Wassergehalt anstiegen. Der Anstieg des intrazellulären Wassers ist auf die Zunahme der Körpermagermasse zurückzuführen. Allerdings nahm auch das extrazelluläre Wasser in der Insulin Aspart Gruppe zu. Hallschmid *et al.* stellten bei der intranasalen Gabe von Insulin bei Frauen eine signifikante Zunahme an extrazellulärem Wasser fest, bei Männern trat dieser Effekt nicht auf (Hallschmid *et al.*, 2004b). Als mögliche Erklärung für die Zunahme an extrazellulärem Wasser bei Frauen sahen sie die höheren Konzentrationen des Insulins im Zentralen Nervensystem (ZNS), da die Frauen im Bezug auf ihr Körpergewicht höhere Dosen an Insulin appliziert bekamen. In unserer Studie ist durch die Verwendung des monomeren Insulins ebenfalls von höheren zentralen Insulinkonzentrationen auszugehen. Eventuell ist die Zunahme von extrazellulärem Wasser also eine weitere zentrale Wirkung von Insulin, welche erst bei höheren zentralnervösen Konzentrationen zum Tragen kommt. Bei den genannten weiblichen Versuchspersonen fällt die Zunahme an extrazellulärem Wasser allerdings so stark aus, dass insgesamt eine

Körpergewichtszunahme resultiert, wohingegen bei unseren Probanden insgesamt das Körpergewicht abnimmt.

Vorangegangene Studien zeigten, dass bei der intranasalen Insulinapplikation der Plasmaglukosespiegel ebenso wie der Seruminsulinspiegel unbeeinflusst bleibt, da das Insulin nicht in den Körperkreislauf gelangt (Kern *et al.*, 1999). Dies konnte in der von uns durchgeführten Studie durch die Auswertung der wöchentlichen Blutentnahmen erneut bestätigt werden.

4.1 Unterschiede in der Wirksamkeit von Humaninsulin und Insulin Aspart

Die durch Insulin Aspart erreichte deutliche Reduktion des Körperfettgehalts untermauert die stärkere zentrale Wirksamkeit des Insulinmonomers im Vergleich zum Humaninsulin. Weiterhin konnte mit der Zunahme der Muskelmasse ein neuer Effekt des Insulins gezeigt werden. Dieser Effekt ist möglicherweise auf eine Überschreitung einer Schwellendosis von Insulin im ZNS zurückzuführen. Möglicherweise kommt er erst bei einer höheren zentralen Konzentration von Insulin im ZNS zum Tragen, wie sie bei der Verwendung von Insulin Aspart erreicht wurde. Wie erwartet, ist durch die pharmakokinetisch wirksame Strukturveränderung des Insulin Asparts von einer gesteigerten Aufnahme ins ZNS auszugehen.

4.2 Aussagebegrenzungen der Studie

In der vorliegenden Studie verwenden wir zur Bestimmung der Körperzusammensetzung die BIA, mit dieser Methode kann die Reduktion der Körperfettmasse zuverlässig quantifiziert werden. Allerdings liefert die BIA keine Information über die Lokalisation der Körperfettabnahme und somit auch nicht darüber, ob eher ein Verlust an viszeralem oder subkutanem Fettgewebe vorliegt. Eine solche Unterscheidung ist besonders für eine

Beurteilung im Rahmen des Metabolischen Syndroms von Bedeutung (Grundy *et al.*, 2004). Als Goldstandart für die Bestimmung sowohl des Fettgehalts als auch des Fettverteilungsmusters gilt die Magnetresonanztomographie (MRT) (Abate *et al.*, 1994). Deren Verwendung, wenngleich um ein vielfaches teurer als die BIA, ist für weitere Studien in dieser Versuchsreihe sicherlich zu diskutieren.

Im Rahmen dieser Studie fand keine Beurteilung des Essverhaltens der Probanden statt. Um die Probanden im Unklaren über die genannten Hypothesen zu lassen und eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden, wurde bewusst auf die Verwendung von Fragebögen zum Hungerverhalten verzichtet. Somit kann allerdings nicht sicher erklärt werden, wodurch die Körperfettmasse und das Körpergewicht abgenommen haben. Es wird zwischen einer Reduktion der Nahrungsaufnahme, einer Steigerung der sympathischen Aktivität oder einer Kombination aus beidem diskutiert. Die beobachtete Zunahme der Körpermagermasse ist ein neu aufgetretener Effekt, der von großer Bedeutung ist. In weiteren Studien ist es wichtig, die Ursachen dieser Zunahme an Muskelmasse herauszufinden. Möglicherweise liegt eine Steigerung der körperlichen Aktivität zu Grunde, deren Messung wäre beispielsweise über die Verwendung eines Schrittzählers vorstellbar (Ryan *et al.*, 2006). Zur Beurteilung von Muskelmasse und Körpergewicht im Verlauf ist die Durchführung von Nachuntersuchungen anzustreben. An der vorliegenden Studie nahmen lediglich männliche Probanden teil. Anlass für die getrennte Betrachtung beider Geschlechter liefert unter anderem eine Studie von Hallschmid *et al.*, die Unterschiede in der zentralen Insulinwirkung zwischen Frauen und Männern beobachtete (Hallschmid *et al.*, 2004b). Bei Frauen ist nach der gleichen nasal applizierten Menge Insulin von höheren Konzentrationen im ZNS auszugehen, bei Folgestudien mit Einbeziehung von weiblichen Probanden ist daher eine Dosisanpassung zu berücksichtigen. Die Ergebnisse dieser Studie wurden bei normalgewichtigen Probanden erhoben.

Langfristig ist allerdings die Anwendung eines Insulinnasensprays zur Therapie von Übergewicht anzustreben. Somit ist zunächst eine Folgestudie nötig, bei welcher überprüft wird, inwieweit die Ergebnisse der vorliegenden Studie auch für übergewichtige Probanden gelten.

4.3 Ausblick: intranasale Insulinapplikation zur Therapie von Übergewicht

Durch Übergewicht wird das Risiko für die Entwicklung eines arteriellen Hypertonus und einer Dyslipidämie, sowie eines Diabetes mellitus Typ 2 mehr als verdreifacht (Haslam *et al.*, 2006). Damit steigt in hohem Maße auch die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen. Im Jahr 2006 waren kardiovaskuläre Ereignisse wie Herzinfarkt und Schlaganfall die Haupttodesursache in Deutschland, was die Bedeutung der Therapie von Übergewicht und Adipositas unterstreicht (Webside des statistischen Bundesamtes).

Durch eine Reduktion des Körpergewichts lässt sich das kardiovaskuläre Risiko verbessern (Aronne und Isoldi, 2007). Zur Therapie von Übergewicht werden derzeit verschiedenste Diäten eingesetzt. Häufiges Problem dieser Diäten ist allerdings, dass nach Abschluss der Therapie das Ausgangsgewicht schnell wieder erreicht ist (Harris *et al.*, 1986; Wing und Phelan, 2005).

Der gewichtsreduzierende Effekt von intranasal appliziertem Insulin konnte in dieser Studie bestätigt werden. Insbesondere zeigte sich eine signifikant stärkere Reduktion der Körperfettmasse bei der Gabe von Insulin Aspart im Vergleich zur Gabe von Humaninsulin. Dies spricht für das Erreichen höherer zentralnervöser Konzentrationen durch die Gabe eines monomeren Insulinanalogons im Vergleich zur Gabe eines Humaninsulins.

Besonders die Zunahme von viszeralem Fettgewebe ist für das Auftreten Adipositas assoziierter Erkrankungen verantwortlich, wohingegen das subkutane Fettgewebe für das kardiovaskuläre Risikoprofil von geringerer Bedeutung ist (Matzusawa, 2006). Der Gehalt an viszeralem Fettgewebe lässt sich durch die Bestimmung des Bauchumfangs abschätzen. Der Bauchumfang und folglich das viszerale Fettgewebe nahm in beiden Insulingruppen signifikant ab, was eine positive Beeinflussung der Körperzusammensetzung durch das Insulin unterstreicht.

Geht man davon aus, dass wie Kern *et al.* zeigten, ein verringerter Insulingehalt im ZNS ursächlich an der Entstehung von Übergewicht beteiligt ist, dann stellt die intranasale Insulinapplikation eine viel versprechende Therapiemöglichkeit des Übergewichts dar (Kern *et al.*, 2006).

5 Zusammenfassung

Insulin spielt als Anorexigen in der zentralnervösen Regulation der Nahrungsaufnahme und des Energiehaushaltes eine wichtige Rolle. In der vorliegenden Dissertation wurde die Fragestellung untersucht, inwiefern diese katabole Wirkung des Insulins im Zentralen Nervensystem durch die pharmakokinetischen Eigenschaften des eingesetzten Insulinpräparates beeinflusst wird.

Es wurden 3 Gruppen mit je 12 normalgewichtigen Männern gebildet, die nach einer zweiwöchigen Einstellphase acht Wochen lang täglich entweder 160 I.E. Humaninsulin, 160 I.E. des Insulinmonomers Insulin Aspart oder 1.6 ml Placebo intranasal einnahmen. Die intranasale Applikation ermöglicht den direkten Übertritt von Insulin aus der Nase ins Gehirn. Es konnte gezeigt werden, dass die Behandlung mit beiden Insulinpräparaten zu einer Abnahme des Körpergewichtes führte. Bei der Auswertung der Körperzusammensetzung zeigte sich, dass die mit Insulin Aspart behandelten Probanden einen deutlicheren Verlust an Körperfett aufwiesen als die Probanden der Humaninsulin-Gruppe. Zusätzlich stieg die Magermasse unter der subchronischen Behandlung mit Insulin Aspart. Bei gleicher Affinität zum Insulinrezeptor lässt die größere Abnahme an Körperfettmasse in der Insulin Aspart Gruppe vermuten, dass nach der intranasalen Gabe des Insulinmonomers im Vergleich zum Humaninsulin höhere zentralnervöse Insulinspiegel erreicht werden. Die Ergebnisse dieser Studie untermauern somit die Vermutung, dass die intranasale Gabe von Insulin ein viel versprechender Ansatz in der Adipositas therapie ist. Weiterhin lässt die Zunahme der Magermasse nach Behandlung mit Insulin Aspart und die deutlichere Abnahme an Körperfett annehmen, dass der Einsatz eines Insulinmonomers einen zusätzlichen therapeutischen Nutzen erbringen könnte.

6 Literaturverzeichnis

Abate N, Burns D, Peshock RM, Garg A, Grundy SM:

Estimation of adipose tissue mass by magnetic resonance imaging: validation against dissection in human cadavers.

J Lipid Res 35:1490-1496, 1994

Adan RAH, Tiesjema B, Hillebrand JJG, la Fleur SE, Kas MJH, de Krom M:

The MC4 receptor and control of appetite.

British Journal of Pharmacology 149:815-827, 2006

Aronne LJ, Isoldi KK:

Overweight and obesity: key components of cardiometabolic risk.

Clin Cornerstone 8:29-37, 2007

Air EL, Benoit SC, Blake Smith KA, Clegg DJ, Woods SC:

Acute third ventricular administration of insulin decreases food intake in two paradigms.

Pharmacol Biochem Behav 72:423-429, 2002

Banks WA, Kastin AJ, Huang Wea:

Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin.

Peptides 17:305-311, 1996

Baskin DG, Stein LJ, Ikeda H, Woods SC, Figlewicz DP, Porte D, Jr., Greenwood MR, Dorsa DM:

Genetically obese Zucker rats have abnormally low brain insulin content.

Life Sci 36:627-633, 1985

Baura G, Foster DM, Kaiyala K, Porte D Jr, Kahn SE, Schwartz MW:

Insulin transport from plasma into the central nervous system is inhibited by dexamethasone in dogs.

Diabetes 45:86-90, 1996

- Baura GD, Foster DM, Porte D, Jr., Kahn SE, Bergman RN, Cobelli C, Schwartz MW:
Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain.
J Clin Invest 92:1824-1830, 1993
- Beglinger C, Degen L, Matzinger D, D'Amato M, Drewe J:
Loxiglumide, a CCK-A receptor antagonist, stimulates caloric intake and hunger feelings in humans.
AM J Physiol Regul Integr Comp Physiol 280:R1149-R1154, 2001
- Benedict C, Hallschmid M, Hatke A, Schultes B, Fehm HL, Born J, Kern W:
Intranasal insulin improves memory in humans.
Psychoneuroendocrinology 29:1326-1334, 2004
- Benedict C, Kern W, Schultes B, Born J, Hallschmid M:
Differential sensitivity of men and women to anorexigenic and memory-improving effects of intranasal insulin.
J Clin Endocrinol Metab 93:1339-1344, 2008
- Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC :
The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins.
J Neuroscience 22:9048-9052, 2002
- Benoit SC, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC:
Insulin and Leptin as adiposity signals.
Recent Prog Horm Res 59:267-285, 2004
- Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL:
Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain.
Nat Neurosci 5:514-516, 2002
- Brooks N, Layne JE, Gordon PL, Roubenoff R, Nelson ME, Castaneda-Sceppa C:
Strength training improves muscle quality and insulin sensitivity in Hispanic older adults with type 2 diabetes.
Int J Med Sci 4:19-27, 2006

Brüning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Müller-Wieland D, Kahn CR:
Role of brain insulin receptors in control of body weight and reproduction.
Science 289:2122-2125, 2000

Cherrington AD:
Control of glucose uptake and release by the liver in vivo.
Diabetes 48:1198-1214, 1999

Considine RV, Sinha MK, Heimann ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, Mc Kee LJ, Bauer TL, Caro JF:
Serum immunoreactive-leptine concentrations in normal-weight and obese humans.
N Engl J Med 334:292-295, 1996

Crone C:
Facilitated transfer of glucose from blood into brain tissue.
J Physiol 181:103-113, 1965

Deurenberg-Yap M, Schmidt G, van Staveren WA, Deurenberg P:
The paradox of low body mass index and high body fat percentage among Chinese, Malays and Indians in Singapore.
Int J Obes Relat Metab Disord 24:1011-1017, 2000

Dörhöfer R:
Die Meßparameter der BIA.
In: Dörhöfer R, Pirlich M: Das B.I.A.-Kompendium.
Data-Input GmbH, Darmstadt, 2.Ausgabe, 7, 2005

Engert JC, Berglund EB, Rosenthal N:
Proliferation Precedes Differentiation in IGF-I-stimulated Myogenesis.
The Journal of Cell Biology 135:431-440, 1996

Fehm HL, Smolnik R, Kern W, Mc Gregor GP, Bickel U, Born J:

The Melanocortin Melanocyte-Stimulation Hormone/Adrenocorticotropin₄₋₁₀ decreases
Body fat in humans.

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 86:1144-1148, 2001

Figlewicz DP:

Adiposity signals and food reward: expanding the CNS roles of insulin and leptin.

Am J Physiol, Regul Integr Comp Physiol 284:R882-892, 2003

Flegal KM, Carrol MD, Ogden CL, Johnson CL:

Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000.

JAMA 288:1723-1727, 2002

Flores MB, Fernandes MF, Ropelle ER, Faria MC, Ueno M, Velloso LA, Saad MJ,

Carvalho JB:

Exercise improves insulin and leptin sensitivity in hypothalamus of Wistar rats.

Diabetes 55:2554-61, 2006

Foster LA, Ames NK, Emery RS:

Food intake and serum insulin responses to intraventricular infusions of insulin and
IGF-1.

Physiol Behav 50:745-749, 1991

Gammeltoft S, Hansen BF, Dideriksen L, Lindholm A, Schaffer L, Trub T, Dayan A, Kurtzhals P:

Insulin aspart: a novel rapid-acting human insulin analogue.

Expert Opin Investigating Drugs 8:1431-1432, 1999

Gibbs J, Young RC, Smith GP:

Cholecystokinin decreases food intake in rats.

J Comp Physiol 84:488-495, 1973

Grundy SM, Brewer HB, Cleeman II, Smith SC, Lenfant C:

Definition of Metabolic Syndrome.

Circulation 109:433-438; 2004

Hallschmid M, Benedict C, Born J, Fehm HL, Kern W:

Manipulating central nervous mechanisms of food intake and body weight regulation by intranasal administration of neuropeptides in man.

Physiology & Behavior 83:55-64, 2004a

Hallschmid M, Benedict C, Schhultes B, Fehm HL, Born J, Kern W:

Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women.

Diabetes 53:3024-3029, 2004b

Harris RB, Kasser TR, Martin RJ:

Dynamics of recovery of body composition after overfeeding, food restriction or starvation of mature female rats.

J Nutr 116:2536-2546, 1986

Haslam D, Sattar N, Lean M:

Obesity – time to wake up.

BJM 333, 23:640-642, 2006

Havrankova JM, Schmechel D, Roth J, Brownstein M:

Identification of insulin in rat brain.

Proc Nat Acad Sci 75:5737-5741, 1978

Herbst KL, Bhasin S:

Testosterone action on skeletal muscle.

Curr Opin Clin Nutr Metab Care 7:271-277, 2004

Himms-Hagen J:

Obesity may be due to a malfunctioning of brown fat.

CMA Journal 121:1361-1364, 1979

Hopkins DFC, Williams G:

Insulin receptors are widely distributed in human brain and bind human and porcine insulin with equal affinity.

Diabet Med 14:1044-1050, 1997

Hossain P, Kavar B, El Nahas M:

Obesity and Diabetes in the Developing World - A Growing Challenge.

New England Journal of Medicine 356:213-215, 2007

Huszar D, Lynch C, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR, Gu W,

Kesterson RA, Boston BA, Cone RD, Smith FJ, Campfield LA, Burn P, Lee F:

Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice.

Cell 88:131-141, 1997

Ikeda H, West DB, Pustek JJ, Figlewicz DP, Greenwood MRC, Porte D Jr:

Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats.

Appetite 7:381-386, 1986

Illum L:

Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system.

Eur J Pharm Sci 11:1-18, 2000

Isganaitis E, Lustig RH:

Fast food, central nervous system insulin resistance and Obesity.

Arterioscler Thromb Vasc Biol 25:2451-2462, 2005

Janssen I, Katzmarzyk PT, Ross R, Leon AS, Skinner JS, Rao DC, Wilmore JH, Rankinen T,

Bouchard C:

Fitness Alters the Association of BMI and Waist Circumference with Total and Abdominal Fat.

Obesity Research 3:525-537, 2004

Kahn CR, Goldfine AB:

Molecular determinants of insulin action.

J Diabetes Complications 7:92-105, 1993

Kaiyala KJ, Prigeon RL, Kahn SE, Woods SC, Schwartz MW:

Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs.

Diabetes 49:1525-1533, 2000

Kalra SP, Dube MG, Sahu A, Phelps CP, Kalra P:

Neuropeptide Y secretion increases in the paraventricular nucleus in association with increased appetite for food.

Proc Nat Acad Sci USA 88:10931-10935, 1991

Kern W, Born J, Kerner W, Fehm HL:

Changes in blood pressure and norepinephrine levels during a placebo-controlled euglycemic hyperinsulinemic clamp in healthy subjects.

Exp Clin Endocrinol Diabetes 105:37, 1997

Kern W, Born J, Schreiber H, Fehm HL:

Central nervous system effects of intranasally administered insulin during euglycemia in men.

Diabetes 48:557-563, 1999

Kern W, Hallschmid M, Born J, Fehm HL:

Reduced transport of insulin across the blood-brain-barrier in obese humans.

Diabetes 52: A559, 2003

Kern W, Benedict C, Schultes B, Plohr F, Moser A, Born J, Fehm HL, Hallschmid M:

Low cerebrospinal fluid insulin levels in obese humans.

Diabetologia. 49:2790-2, 2006

Kopelman PG:

Obesity as a medical problem.

Nature 404:635-643, 2000

Kyriaki G:

Brain insulin: regulation, mechanisms of action and function.

Cellular and Molecular Neurobiology 23:1-25, 2003

Laron Z:

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone.

J Clin Pathol: Mol Pathol 54:311–316, 2001

Lawrence D:

Intranasal delivery could be used to administer drugs directly to the brain.

Lancet 359:1674, 2002

Luiten PGM, Ter Horst GJ, Steffens AB:

The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism.

Prog Neurobiol 28:1-54, 1987

Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N, Satoh N, Okazaki T, Shigemoto M, Mori K, Tamura N, Hosoda K, Yoshimasa Y:

Human obese gene expression: adipocyte-specific expression and regional differences in adipose tissue.

Diabetes 44:855-858, 1995

Matsuzawa Y:

The metabolic syndrom and adipocytokines.

FEBS Lett 580:2917-2921, 2006

Mc Gowan MK, Andrews KM, Kelly J, Grossman SP:

Effects of chronic intrahypothalamic infusion of insulin on food intake and diurnal meal patterning in the rat.

Behav Neurosci 104:373-385, 1990

Menendez JA, Atrens DM:

Insulin and the paraventricular hypothalamus: modulation of energy balance.

Brain Res 555:193-201, 1991

Mudaliar SR, Lindberg FA, Joyce M, Beerdsen P, Strange P, Lin A, Henry RR:

Insulin Aspart (B28 Asp-Insulin): A fast action analog of Human Insulin.

Diabetes Care 22, 9:1501-1506, 1999

Muntzel MS, Anderson EA, Johnson AK, Mark AL:

Mechanisms of insulin action on sympathetic nerve activity.
Clin Exp Hyperten 17:39-50, 1995

Muurahainen N, Kissileff HR, Derogatis AJ, Pi-Sunyer FX:

Effects of cholecystokinin-octapeptide (CCK-8) on food intake and gastric emptying in man.
Physiol Behav 44:645-649, 1988

Niswender KD, Schwartz MW :

Insulin and leptin revisited: adiposity signals with overlapping physiological and intracellular signaling capabilities.
Front Neuroendocrinol 24:1-10, 2003

Obici S, Feng Z, Karkanias G, Baskin DG, Rosetti L:

Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats.
Nat Neurosci 5:566-572, 2002a

Obici S, Feng Z, Tan J, Liu LS, Karkanias G, Rossetti L :

Central melanocortin receptors regulate insulin action.
J Clin Invest 108:1079-1085, 2001

Obici S, Zhang BB, Karkanias G, Rossetti L:

Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production.
Nat Med 8:1376-1382, 2002b

Palkovits M:

Hypothalamic regulation of food intake.
Idégyógy sz 56:288-302, 2003

Pardridge WM, Eisenberg J, Yang J:

Human blood-brain barrier insulin receptor.
Neurochem 44:1771-1778, 1985

Pirlich M:

Messtechnik.

In: Dörhöfer R, Pirlich M: Das B.I.A.-Kompendium.

Data-Input GmbH, Darmstadt, 2.Ausgabe, 44-46, 2005

Plum L, Belgardt BF, Brüning JC:

Central insulin action in energy and glucose homeostasis.

Clinical Investigation 116:1761-1766, 2006

Pocai A, Lam TK, Gutierrez-Juarez R, Obici S, Schwartz GJ, Bryan J, Aguilar-Bryan L,
Rossetti L:

Hypothalamic K(ATP) channels control hepatic glucose production.

Nature 434:1026-1031, 2005

Poggioli R, Vergoni AV, Bertolini A:

ACTH-(1-24) and alpha-MSH antagonize feeding behavior stimulated by kappa opiate
agonists.

Peptides 7:843-8, 1986

Polonsky KS, Given BD, Hirsch LJ, Tillil H, Shapiro ET, Beebe C, Frank BH, Galloway JA, Van
Cauter E:

Quantitative study of insulin secretion and clearance in normal and obese subjects.

J Clin Invest 81:435-441, 1988

Porte D Jr, Baskin DG, Schwarz MW:

Insulin signaling in the central nervous system: a critical role in metabolic homeostasis
and disease from c. elegans to humans.

Diabetes 54:1264-1276, 2005

Prodi E, Obici S:

Minireview: The brain as a molecular target for diabetic therapy.

Endocrinology 147:2664-2669, 2006

Richard C:

Energy expenditure: a critical determinant of energy balance with key hypothalamic controls.

Minerva Endocrinol 32:173-83, 2007

Riedy CA, Chavez M, Figlewicz DP, Woods SC:

Intraventricular insulin increases sensitivity to CCK in rats.

Soc for Neuroscience Abstracts 17:543, 1991

Ritter M:

Hormone.

In: Speckmann EJ, Henscheler J, Köhling R: Physiologie.

Urban und Fischer, München, 5. Auflage, 750-753, 2008

Rothwell NJ, Saville ME, Stock MJ:

Role of insulin in thermogenic responses to refeeding in 3-day-fasted rats.

Am J Physiol 245:E160-E165, 1983

Rothwell NJ, Stock MJ:

Insulin and thermogenesis.

Int J Obes 12:93-102, 1988

Ryan CG, Grant PM, Tigbe WW, Granat MH:

The validity and reliability of a novel activity monitor as a measure of walking.

Br J Sports Med 40:779-784, 2006

Sakane T, Akizuki M, Yamashita S, Sezaki H, Nadai T:

Direct drug transport from the rat nasal cavity to the cerebrospinal fluid: the relation to the molecular weight of drugs.

J Pharm Pharmacol 47:379-381, 1995

Schulinkamp RJ, Pagano RC, Hung D, Raffa RB:

Insulin receptors and insulin action in the brain: Review and clinical implications.

Neurosci Biobehav Rev 24:855-872, 2000

Schwartz MW, Figlewicz DP, Baskin DG, Woods SC, Porte D, Jr:

Insulin in the brain: a hormonal regulator of energy balance.

Endocrine Reviews 13:387-414, 1992a

Schwartz MW, Porte D, Jr:

Diabetes, Obesity and the Brain.

Science 307:375-379, 2005

Schwartz MW, Sipols AJ, Kahn SE, Lattemann DP, Taborsky G Jr, Bergmann RN, Woods Sc,
Porte D Jr:

Kinetics and specificity of insulin uptake from plasma into cerebrospinal fluid.

Am J Physiol 259:E387-E383, 1990

Schwartz MW, Sipols AJ, Marks JL, Sanacora G, White JD, Scheurink A, Kahn Se, Baskin DG,
Woods SC, Figlewicz DP, Porte D Jr:

Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by Insulin.

Endocrinology 130:3608-3616, 1992b

Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG:

Central nervous system control of food intake.

Nature 404:66-672, 2000

Segal KR, Dunaif A, Gutin B, Albu J, Nyman A, Pi-Sunyer FX:

Body Composition, Not Body Weight, Is Related to Cardiovascular Disease
Risk Factors and Sex Hormone Levels in Men.

J. Clin. Invest. 80:1050-1055, 1987

Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald P, Hodgdon JA, Van Itallie TB:

Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four site
crossvalidation study.

Am J Clin Nutr 47:7-14, 1988

Smith GP, Jerome C, Cushin BJ, Eterno R, Simansky KJ:

Abdominal vagotomy blocks the satiety effect of cholecystokinin in the rat.

Science 213:1036-1037, 1981

Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, Leibowitz SF:

Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity.

Peptides 7:1189-1192, 1986

Stein LJ, Dorsa DM, Baskin DG, Figlewicz DP, Porte D Jr, Woods SC:

Reduced effect of experimental peripheral hyperinsulinemia to elevate cerebrospinal fluid insulin concentrations of obese Zucker rats.

Endocrinology 121:1611-1615, 1987

Stockhorst U, Fries D de, Steingrueber HJ, Schwerbaum WA:

Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans.

Physiology & Behaviour 83:47-54, 2004

Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ:

Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats.

Diabetes 40:280-289, 1991

Strubbe JH, Mein CJ:

Increased feeding in response to bilateral injection of insulin antibodies in the VMH.

Physiol Behav 19:309-313, 1977

Tsai AC, Sandretto A, Chung YC:

Dieting is more effective in reducing weight but exercise is more effective in reducing fat during the early phase of a weight-reducing program in healthy humans.

J Nutr Biochem 9:541-9, 2003

Unger JW, Livingston JN, Moss AM:

Insulin receptors in the central nervous system: localisation, signalling mechanisms and functional aspects.

Prog Neurobiol 36:343-362, 1991

Van Dijk G, Bottone AE, Strubbe JH, Steffens AB:

Hormonal and metabolic effects of paraventricular hypothalamic administration of neuropeptide Y during rest and feeding.

Brain Res 660:96-103, 1994

Van Houten M, Posner BI:

Circumventricular organs: receptors and mediators of direct peptide hormone action on brain.

Adv Metab Disord 10:269-289, 1983

Vega GL, Adams-Huet B, Peshock R, Willett DW, Shah B, Grundy SM:

Influence of body fat content and distribution on variation in metabolic risk.

J Clin Endocrinol Metab 91:4459-4466, 2006

Wallum BJ, Taborsky GJ, Jr, Porte D, Jr, Figlewicz DP, Jacobson L, Beard JC, Ward WK, Dorsa D:

Cerebrospinal fluid insulin levels increase during intravenous insulin infusion in man.

J Clin Endocrinol Metab 64:190-194, 1987

Website des Statistischen Bundesamtes am 14.07.08

<http://www.destatis.de/jetspeed/portal/cms/Sites/destatis/Internet/DE/Content/Statistiken/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/Content75/SterbefaelleInsgesamt,templateId=renderPrint.psml>

Weiss EP, Racette SB, Villareal DT, Fontana L, Steger-May K, Schechtman KB, Klein S, Ehsani AA, Holloszy JO:

Lower extremity muscle size and strength and aerobic capacity decrease with caloric restriction but not with exercise-induced weight loss.

J Appl Physiol 102: 634–640, 2007

Wing RR, Phelan S:

Long-term weight loss maintenance.

Am J Clin Nutr 82:222-225, 2005

Woods SC, Figlewicz DP, Schwartz MW, Porte D Jr:

A reassessment of the regulation of adiposity and appetite by the brain insulin system.

Int J Obes 14:69-76, 1990

Woods SC, Lotter EC, McKay LD, Porte D Jr:

Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons.

Nature 282:503-505, 1979

Woods SC, Seeley RJ, Porte DJ, Schwartz MW:

Signals that regulate food intake and energy homeostasis.

Science 280:1378-1383, 1998

Woods SC:

Gastrointestinal satiety signals.

Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 286:G7-G13, 2004

Zarjevski N, Cusin I, Vetter R, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B:

Chronic intracerebroventricular neuropeptide-Y administration to normal rats mimics hormonal and metabolic changes of obesity.

Endocrinology 133:1753-1758, 1993

Zimanyi IA, Fathi Z, Poindexter GS:

Central control of feeding behavior by neuropeptide Y.

Curr Pharm Des 4:349-366, 1998

7 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Werner Kern, der mit der Stellung des Themas die Grundlage für diese Dissertation geschaffen und mich während der Durchführung umfassend unterstützt hat.

Besonders danke ich auch meinem Betreuer Herrn Dr. rer. hum. biol. Christian Benedict. Er hat mir bei der Organisation und Durchführung des experimentellen Teils sowie bei der statistischen Auswertung Hilfestellung geleistet, mir beim Verfassen dieser Arbeit mit fachkundigen Ratschlägen zur Seite gestanden und mich stets motiviert.

Mein Dank richtet sich weiterhin an Herrn Prof. Dr. med. Hendrik Lehnert und Herrn Prof. Dr. med. Jan Born für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und nötigen Materialien zur Durchführung der Studie.

Für die Bestimmung der Laborparameter bedanke ich mich beim Institut für klinische Chemie.

Frau Dr. med. Katrin Schmitz danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Versuchsreihe.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei allen Probanden für ihre zuverlässige Teilnahme an der Studie bedanken.

Abschließend danke ich meiner Familie und meinen Freunden für ihre auf vielfältige Weise geleistete Unterstützung, insbesondere dafür, dass sie mich stetig motiviert und bestärkt haben.

8 Lebenslauf