

Medizinische Klinik

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. H. Lehnert

**Die Wirkung des lipophilen
Insulin-Analogons Detemir auf
DC-Potentiale und die deklarative
Gedächtnisleistungsfähigkeit**

Inauguraldissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
- an der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von
Nina Alexandra Eggers
aus Hamburg

Lübeck 2009

1. Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Kerstin M. Oltmanns

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christoph Helmchen

Tag der mündlichen Prüfung: 07.06.2010

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 07.06.2010

gez. Prof. Dr. med. Werner Solbach
- Dekan der Medizinischen Fakultät -

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	1
1. Einleitung	2
Die zentralnervöse Wirkung des Insulins	3
Insulin: Aufbau und Struktur	3
Die Aufnahme des Insulins in das Gehirn	6
Der Einfluss des Insulins auf das zentrale Nervensystem (ZNS)	10
Transkortikale DC-Potentiale (Gleichspannungspotentiale)	13
Die neurophysiologischen Grundlagen der DC-Potentiale	13
Der Einfluss des Insulins auf DC-Potentiale	16
Fragestellungen und Zielsetzung	19
2. Material und Methoden	20
Probandenkollektiv	20
Allgemeine Planung	21
Studienablauf	21
Labormethoden	27
3. Eigene Untersuchungen	29
Blutzuckerspiegel und Plasmaglukosespiegel unter Insulingabe	29
Ergebnisse der DC-Potentiale unter Detemir und Normalinsulin	30
Gedächtnistests unter Detemir und Normalinsulin	33
Subjektives Empfinden unter Detemir und Normalinsulin	34
4. Diskussion	42
5. Literaturverzeichnis	46
6. Abbildungsverzeichnis	54
7. Tabellenverzeichnis	54
8. Abkürzungsverzeichnis und Sonderzeichen	55
9. Anhang	56
10. Danksagung	58
11. Lebenslauf	59

Zusammenfassung

Die Infusion von Humaninsulin (Normalinsulin) führt zu zentral nervösen Effekten und löst innerhalb kurzer Zeit Veränderungen von langsamem kortikalen EEG-Potentialen, so genannten DC-Potentialen aus. Vor diesem Hintergrund untersuchte ich in meiner Studie, ob das Insulin-Analogon Detemir stärkere Effekte auf die Gehirnaktivität ausübt als Normalinsulin. Dies wäre ein Hinweis darauf, dass Insulin Detemir aufgrund seiner ausgeprägten Lipophilie in der Lage ist, die Blut-Hirn-Schranke (BHS) besser zu überwinden als das hydrophile Normalinsulin.

Da Insulin bekanntlich eine modulierende Wirkung auf die deklarative Gedächtnisleistung hat, sollte darüber hinaus herausgefunden werden, ob dies auch unter Insulin Detemir zu beobachten ist.

Die Studie basiert auf einer hyperinsulinämischen euglykämischen Versuchsanordnung. Nach einer randomisierten Aufteilung nahmen 15 gesunde männliche Probanden zwischen 18 und 30 Jahren daran teil und erhielten an zwei Versuchstagen entweder Insulin Detemir oder Normalinsulin. Intravenöse Glukosegabe gewährleistete dabei euglykämische

Versuchsbedingungen. Die Effekte der beiden Insuline auf die Gehirnaktivität wurden durch die Registrierung von DC-Potentialen ermittelt. Des Weiteren wurde die Gedächtnisleistung mittels standardisierter kognitiver Tests dokumentiert. Von weiterem Interesse waren die Effekte der Insulingaben auf das jeweilige subjektive Empfinden der Versuchsteilnehmer.

Der Einfluss der Insuline auf die Peripherie wurde durch Blutentnahmen überprüft.

Die Probanden zeigten unter der Insulin Detemir-Bedingung eine deutliche Negativierung über allen Ableitungen der DC-Potentiale. Für die Normalinsulin-Bedingung konnte keine signifikante Potentialänderung beobachtet werden. Ein Zusammenhang einer insulininduzierten Verbesserung der Gedächtnisleistungsfähigkeit, wie es sich in Vorgängerstudien zeigen konnte, ließ sich nicht belegen. Es war eine leichte Tendenz zu erkennen, dass es unter der Insulin Detemir-Bedingung zu einer Verbesserung des subjektiven Empfindens kam.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die systemische Gabe von Insulin Detemir die Gehirnaktivität schnell und anhaltend beeinflusst, welches sich sowohl in dem raschen Beginn als auch in der, über die gesamte Aufnahmezeit von neunzig Minuten, andauernden DC-Potentialverschiebung in negative Richtung widerspiegelt. Vor diesem Hintergrund liegt die Vermutung nahe, dass insbesondere der veränderte Wirkmechanismus des Insulin-Analogons ursächlich für die beobachteten zentralnervösen Effekte ist.

1. Einleitung

Zur Einführung in das Thema dieser Dissertation folgt hier eine kurze Übersicht über die Inhalte, die dabei bearbeitet worden sind. Eingegangen wird auf die Bedeutung des Hormons Insulin – über seine Wirkung im Stoffwechsel hinaus – insbesondere im zentralen Nervensystem. Bekannt war, dass systemisches Insulin die Blut-Hirn-Schranke vorwiegend mittels eines sättigbaren endothelialen Transportsystems überquert. Human- und tierexperimentelle Versuche legten nahe, dass es sich hierbei um einen langsamen - mehrere Stunden lang anhaltenden - Transportweg des Insulins ins Gehirn handelt. Unsere Studie baute auf Ergebnissen auf, wonach eine intravenöse Normalinsulin-Applikation schon nach wenigen Minuten zu Veränderungen der Gehirnaktivität führte (Hallschmid et al. 2004). Dieser Effekt wurde durch die Ableitung von Gleichspannungspotentialen (Direct Current Potentials) nachgewiesen, die als besonders sensitiv für die graduelle Modulation der Gehirnaktivität gelten. Ursächlich hierfür sind ionische Veränderungen im Bereich des Extrazellulärraumes von Neuronen; ebenso wird die Beteiligung von Gliazellen an DC-Potentialen diskutiert (Birbaumer et al., 1990; Amzica et al., 2002). Ziel dieser Studie war es nachzuweisen, dass das langwirkende Insulin-Analogon Insulin Detemir durch seine ausgeprägte Lipophilie die Blut-Hirn-Schranke schneller und in größerer Menge als das hydrophile Normalinsulin überwindet. Die Wirkung des Insulins auf die Gedächtnisleistung bei gesunden jungen Menschen, aber auch bei Alzheimer-Patienten war Gegenstand verschiedener Studien, die insbesondere eine Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses unter Insulin beobachteten.

Daher stellt die Gedächtnisleistungsfähigkeit des Menschen ein weiteres Themengebiet dieser Arbeit dar, im Hinblick auf die Studie galt es insbesondere, den Einfluss der Insuline auf die deklarative Gedächtnisleistungsfähigkeit zu untersuchen. Der zentralnervöse Einfluss von Insulin sowohl auf das Essverhalten als auch auf den Hormonhaushalt war ein weiterer Bestandteil dieser Studie, der parallel von Katrin Dieckmann in ihrer Doktorarbeit beschrieben wird.

Die zentralnervöse Wirkung des Insulins

Insulin: Aufbau und Struktur

Insulin ist das wichtigste anabole Hormon. Es ist notwendig für die Stoffwechselregulation und für die Aufnahme von Glukose in die Zellen. Insulinmangel löst Diabetes mellitus aus. Bei Diabetes mellitus liegt eine Regulationsstörung des Glukosestoffwechsels vor, die zu chronischen Hyperglykämien führt. Dabei ist die Insulinsekretion gestört oder die Insulinwirkung ist vermindert.

Insulin wurde 1923 erstmalig von Frederick Banting und Charles Best aus Rinderpankreas angereichert, so dass seither sein therapeutischer Einsatz bei der Behandlung der Zuckerkrankheit möglich ist. Erst nach dem 2. Weltkrieg gelang Frederick Sanger die Strukturaufklärung des Insulins. Nach Sanger zählt Insulin zu den Proteohormonen und besteht aus zwei Peptidketten. Die A-Kette setzt sich aus 21 Aminosäuren zusammen, die B-Kette aus 30 Aminosäuren. Verbunden sind die beiden Ketten über zwei Disulfidbrücken. Die räumliche Struktur des Insulins erhält Stabilität über eine dritte Disulfidbrücke im Bereich der A-Kette (Löffler & Petrides, 1998).

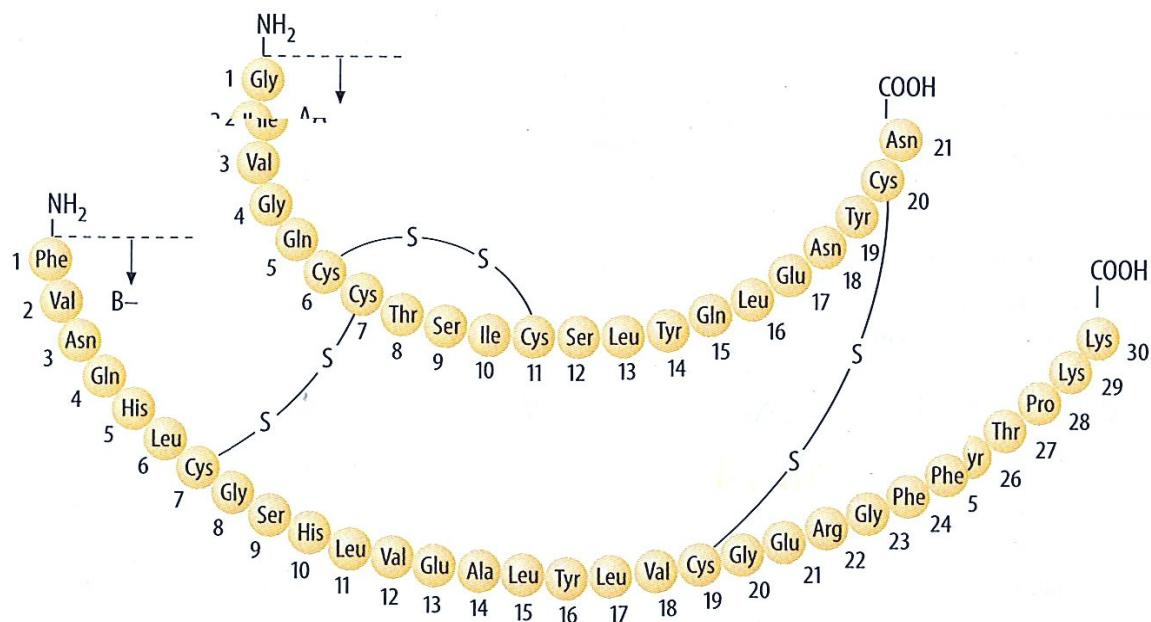


Abbildung 1: Primärstruktur des Humaninsulins (aus Löffler & Petrides, 1998).

Für mehrere Jahrzehnte war die einzige Quelle zur Gewinnung von Insulinpräparaten die Bauspeicheldrüse von Tieren. Da die chemische Struktur des Rinderinsulins sich nur an drei Stellen vom menschlichen Insulin unterscheidet, wurde es zur Behandlung der Zuckerkrankheit beim Menschen eingesetzt. Als zweite Quelle galt das Schweineinsulin, das sogar nur in einer Aminosäure vom humanen Insulin abweicht (Löffler & Petrides, 1998).

Langwirkende Insulin-Analoga

Rekombinante DNA Technologie wird für die Herstellung sogenannter langwirkender Insulin-Analoga eingesetzt mit dem Ziel verbesserte Absorptionsraten zu schaffen, um dadurch eine Optimierung in der glykämischen Kontrolle gewährleisten zu können und Komplikationen, wie Hypoglykämien, zu minimieren. Glargin, das erste verzögert langwirkende Insulin-Analogon ist im Jahr 2000 unter dem Handelsnamen Lantus® auf den Markt gekommen. Das Wirkprinzip beruht darauf, dass es, sobald es subkutan injiziert wird, kristalline Depots aufgrund des im subkutanen Fettgewebe bestehenden pH-Wertes von 7,4 bildet und somit konstant freigesetzt werden kann. Die Löslichkeit dieses Insulins liegt im sauren pH-Bereich (pH 4). Vergleicht man die Wirkungsprofile von Glargin und NPH-Insulin, so verläuft es bei Lantus® flacher ohne eine Plasma-Spitzenkonzentration, während das NPH-Insulin drei bis sechs Stunden nach subkutaner Injektion sein Wirkmaximum erreicht; die Wirkung lässt anschließend wieder nach (Konrad et al., 2004). Das Basalinsulin Detemir ist das zweite langwirkende lösliche Insulin-Analogon. Bei Detemir liegt die Löslichkeit im pH-neutralen Bereich. Dadurch bleibt es nach Verabreichung am Injektionsort (dem subkutanen Fettgewebe mit dem pH-Wert 7,4) flüssig, und es bildet sich ein subkutanes Depot. Es wurde erreicht, dass die Insulinmoleküle in diesem Depot sich zu Hexameren formieren. Eine Röntgenstrukturanalyse des Insulins Detemir zeigt, dass es in Verbindung mit Zink und Phenol kristallisiert und sich zu einem R6-Hexamer formiert. Damit weist es eine signifikante Strukturähnlichkeit mit dem R6-Hexamer des Humaninsulins auf (Barlocco, 2003; Chapman & Perry, 2004; Kurtzhals, 2004). Die dadurch gewonnene Stabilität ermöglicht eine verzögerte Freisetzung aus dem subkutanen Depot, da die Dissoziation in "aktive" Monomere verlangsamt ist (Kurtzhals, 2004).

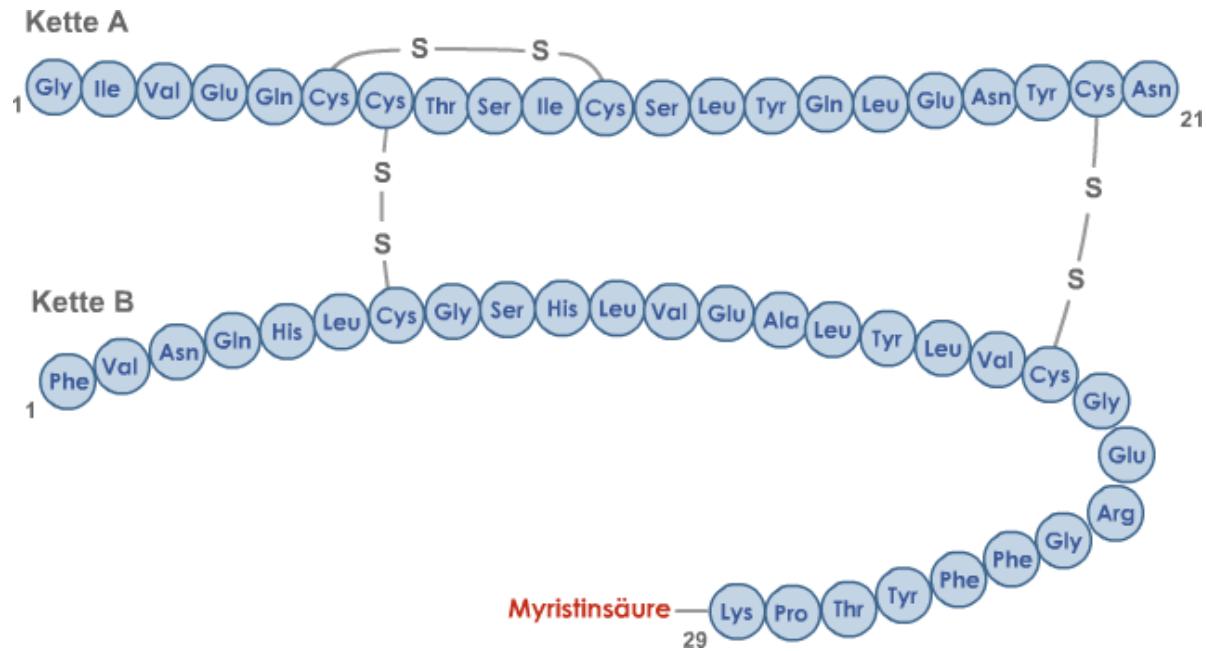


Abbildung 2: Structure of insulin detemir.

Aus: http://www.pharmawiki.ch/wiki/media/Insulin_detemir_1.gif. Entnommen am 15.11.2009.

Eine längere Wirkdauer von Insulin Detemir ist begründet in einer starken Selbstassoziation der Insulin-Moleküle auf der einen Seite und außerdem durch eine Bindung an humanes Albumin, das eine Transportfunktion im Organismus einnimmt. Die Bindung an Albumin ist ein gängiges Prinzip, um eine Absorption zu verzögern und eine längere Verweildauer des Insulinmoleküls im subkutanen Depot zu ermöglichen (Hennige et al., 2006).

Der neuartige Mechanismus des lipophilen Insulins Detemir beruht auf dem Prinzip, an die B-Kette des Insulinmoleküls an Position 29 eine Fettsäure (C-Myristinsäure) zu koppeln.

Die Fettsäuremodifikation ermöglicht so eine reversible Bindung des Insulins an die langketigen Fettsäurebindungsstellen des Albumins mit einer Bindungskonstante von $1,0 \times 10^5$ mol/l bei 37 °C (Gallwitz, 2004; Chapman & Perry, 2004; Kurtzhals, 2004).

Pharmakodynamische Modellrechnungen zeigten, dass durch die Albuminbindung Schwankungen in den subkutanen Absorptionsraten gepuffert werden und somit eine gleichmäßiger Abgabe aus dem Depot gewährleistet wird (Gallwitz, 2004). Wird das strukturell veränderte Insulin in die Blutbahn absorbiert, bindet es an Albumin und wird verzögert freigesetzt (Konrad et al., 2004). Die Verzögerungswirkung besteht also neben dem Injektionsort (subkutanes Fettgewebe) auch in der Bindung an Albumin im Blutplasma und in den interstitiellen Flüssigkeiten der Zielgewebe (Gallwitz, 2004; Chapman & Perry, 2004; Kurtzhals, 2004).

Die Modifikation von Detemir scheint eine gewebsspezifische Wirkung speziell auf das Gehirn zu bewirken. Die Forschergruppe um Hennige et al. schloss diese gehirnspezifische

„tissue selective action“ aus ihrer Studie, in der Mäusen Humaninsulin oder Insulin Detemir intravenös verabreicht wurde. Sie ermittelten in ihren Experimenten die zerebrale Insulinkonzentration, leiteten ein epidurales EEG ab, um die kortikale Aktivität zu messen und führten Gewebsuntersuchungen unter anderem im zerebralen Kortex und Hypothalamus durch. Es zeigte sich unter Insulin Detemir-Gabe sowohl eine höhere Konzentrationen von Detemir im Gehirn, als auch eine erhöhte kortikale Aktivität. In den untersuchten Gewebsproben aktivierte Insulin Detemir die Insulinsignal-Kaskade zu einem früheren Zeitpunkt. Sie führten die beobachtete gehirnspezifische Wirkung von Insulin Detemir auf die Modifikation des Analogons zurück, da durch die Acylierung der Insulinmoleküle mit Fettsäuren die reversible Bindung an Albumin ermöglicht wird und dadurch die Gehirngängigkeit verbessert und der Insulin Anstieg im Gehirn erleichtert scheint (Hennige et al., 2006).

Die Aufnahme des Insulins in das Gehirn

Insulin wurde lange Zeit nur hinsichtlich seiner peripheren Wirkung betrachtet, insbesondere da es durch seine regulatorische Funktion im Stoffwechsel eine entscheidende Rolle bei der Therapie von Diabetes einnimmt. Bis vor einigen Jahren war es noch unklar, ob Insulin und auch Insulinrezeptoren eine Funktion im ZNS übernehmen, da dieses System als ein insulinunabhängiges betrachtet wurde. Van Houten und Posner gelang es 1983 nachzuweisen, dass systemisches Insulin das Gehirn über Lücken in den Blut-Hirn-Schranken zirkumventrikulärer Organe erreicht. Ebenso gelang es, Insulinrezeptoren in spezifischen Hirnregionen nachzuweisen (Havrankova et al., 1978). Diese bestimmten Areale sind an der Regulation wichtiger Funktionen beteiligt, wie z. B. der Essensaufnahme und höheren geistigen Tätigkeiten. (Zhao & Alkon, 2001).

Auf die Wege des Insulins ins zentrale Nervensystem und auf die dort vorhandenen Insulinrezeptoren wird im Folgenden näher eingegangen.

Zirkumventrikuläre Organe

Über Organe, die außerhalb der Blut-Hirn-Schranke liegen, gelangt systemisches Insulin in das Gehirn. (Als systemisches Insulin bezeichnet man Insulin, das über den Blut- und/oder Lymphweg seine Wirkung entfaltet). Diese Organe werden als zirkumventrikuläre Organe bezeichnet, und dabei handelt es sich zum Beispiel im Bereich des III. Ventrikels um die Neurohypophyse und den Plexus choroideus. Des Weiteren zählt man sowohl die Area postrema als auch die Eminencia mediana dazu. Stoffe gelangen hier durch Diffusion ins Gehirn (Schiebler et al., 1999). Im Bereich dieser zirkumventrikulären Organe wurden Rezeptoren für Insulin nachgewiesen (Baskin et al., 1987; Schwartz et al., 1991).

Die Blut-Hirn-Schranke

Die Wirkung systemischen Insulins im ZNS ist von einem zeitaufwendigen Transport über Schrankensysteme des Gehirns abhängig. Zu diesen zählen die Blut-Hirn- und die Blut-Liquor-Schranke. Die Aufgabe der Blut-Hirn-Schranke als austauschende Membran besteht darin, bestimmte Stoffe daran zu hindern, ins ZNS zu gelangen. Diese Schutzfunktion besteht aus folgenden drei Schichten: den Endothelzellen der Hirnkapillaren, deren Basalmembranen und den anliegenden Fortsätzen der Astrozyten. Morphologisches Korrelat der Blut-Hirn-Schranke sind tight junctions. Über diese wird der Flüssigkeits- und Stoffaustausch zwischen intra- und extravaskulärem Raum im Zentralnervensystem kontrolliert und so die Konstanz des inneren Milieus gewährleistet. Eine Öffnung der tight junctions führt durch Austritt von Blutplasma und Plasmaproteinen in den Extrazellularraum des Hirngewebes zum Ödem (Böcker et al., 2004, S.251). Die Permeabilität hängt ab von der chemisch-physikalischen Zusammensetzung der Stoffe (Molekülgröße, Ionen, Ladungen usw.).

Für die Überwindung der Blut-Hirn-Schranke wurden spezielle Transportwege für das Insulin entdeckt. Das Hormon ist in der Lage, die BHS über einen sättigbaren aktiven transendothelialen Transport zu überwinden. Dieses Transportsystem befindet sich an den Endothelzellen der Hirnkapillaren (Baskin et al., 1987; Schwartz et al., 1992; Van Houten & Posner, 1983).

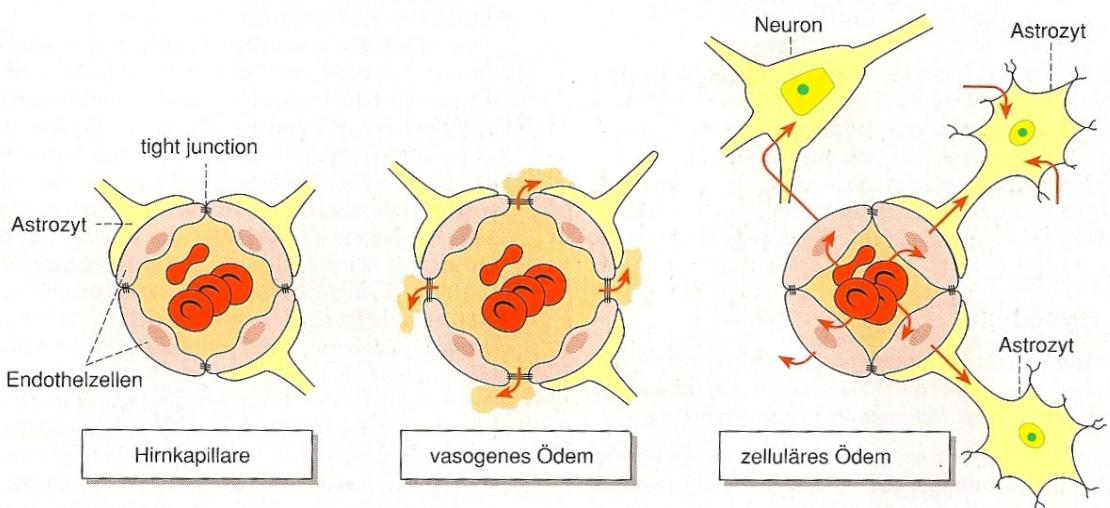


Abbildung 3: Strukturelle Darstellung der Blut-Hirn-Schranke und die Folgen einer Funktionsstörung: Sogenannte „tight junctions“ stellen das morphologische Substrat der Blut-Hirn-Schranke dar und verbinden die Endothelzellen in den Hirnkapillaren (aus Böcker, 2001).

Die Blut-Liquor-Schranke

Neben der eben bereits erwähnten Blut-Hirn-Schranke stellt die Blut-Liquor-Schranke ein weiteres Diffusionshindernis im Gehirn dar. Diese verhindert, dass bestimmte Stoffe vom Blut- in den Liquorraum diffundieren können, behindert aber nicht die Verbindung zwischen Liquor und dem ZNS. Die Blut-Liquor-Schranke setzt sich folgendermaßen zusammen: aus Kapillarendothel, der Basalmembran und dem Plexusepithel. Allgemein lässt sich zu dieser Schranke sagen, dass ausschließlich sehr kleine Moleküle dieses Hindernis überwinden können; für z. B. Proteine und Fremdkörper gilt das nicht. Für lipophile Substanzen ist sie leichter durchgängig als für hydrophile Substanzen (Schiebler et al., 1999).

Studien belegten, dass intravenös verabreichtes Insulin erst nach Stunden im Liquor nachweisbar ist, wohingegen es nach einem systemischen Anstieg des Insulins, 15-30 Minuten verzögert auch zu einer signifikanten Konzentrationserhöhung des Insulins im Liquor kam. Dabei wurde der Insulinspiegel im Liquor mit dem systemischen Insulinspiegel verglichen (Schwartz et al., 1991). Weitere Resultate wurden von Banks et al. an Versuchen mit Nagetieren erzielt. Insulin sammelte sich schon fünf Minuten nach intravenöser Gabe auch im Hirnparenchym an (Banks et al., 1997). In weiteren Studien an Ratten zeigte sich ebenso, dass es in den untersuchten Hirnextrakten nach Insulingabe zu einem Anstieg der Insulinkonzentration kam, die 30 – 40% des Insulin-Plasma-Spiegels ausmachte (Yalow & Eng, 1983). Es ist bekannt, dass der Liquor-Insulin-Spiegel nur 5% des Insulin-Plasma-Spiegels beträgt (Baura et al., 1993). Das legt die Vermutung nahe, dass Insulin primär im Hirngewebe aufgenommen wird und nur zu einem geringen Anteil im Liquor und das auch erheblich langsamer (Schwartz et al., 1990; Wallum et al., 1987).

Insulintypische Wirkungen im Liquor konnten nur mit sehr viel höheren Dosen erreicht werden verglichen mit Insulingaben ins Hirnparenchym. Um im Liquor eine ähnliche Wirkung zu erzielen wie im Hirnparenchym, hätten in den Liquorräumen auch dementsprechend viele Insulinrezeptoren vorhanden sein müssen, was sich jedoch nicht bestätigte (Baskin et al., 1983).

Die gewonnenen Ergebnisse erscheinen noch nicht gesichert genug, um die Rolle des Liquors bei der Aufnahme des Insulins endgültig beurteilen zu können, da die Aufnahme des Insulins im Hirnparenchym sich eher als schlüssig erwiesen hat. Das BHS-Endothel wird von Schwartz et al. als vorrangiger Transportwege für zirkulierendes Insulin ins Gehirn und in den Liquor angesehen, als nachrangig sehen sie den Weg über die Blut-Liquor-Schranke (Schwartz et al., 1991).

Insulinrezeptoren im ZNS

Insulinrezeptoren sind im Gehirn zahlreich vertreten. Dies zeigt, dass Insulin eine besondere Bedeutung für zentralnervös physiologische Aufgaben hat. Besonders dicht sind sie im Bulbus olfactorius, Hypothalamus, Hippokampus und im gesamten limbischen System (Unger et al., 1991). Man hat herausgefunden, dass Neurone und Gliazellen Insulinrezeptoren besitzen (Boyd & Raizada, 1983; Boyd et al., 1985; Clarke et al., 1984; Lowe et al., 1986). Nachgewiesen wurden die Rezeptoren insbesondere an Zellkörpern und den Synapsen. Dort sind sie an der Regulation der Ausschüttung von Neurotransmittern und dem Rekrutieren weiterer Rezeptoren beteiligt (Jonas et al., 1997; Wan et al., 1997; Abbott et al., 1999; Christie et al., 1999; Lin et al., 2000).

Die Insulinrezeptoren im ZNS unterscheiden sich von denen in der Peripherie gelegenen sowohl in der Struktur als auch in der Funktion. Es sind zwei Arten von Rezeptortypen im ZNS bekannt, der neuronale Typ (auf Neuronen) und der periphere Typ, den man auf peripheren Neuronen, Kapillarendothelien und bei Gliazellen antrifft (Heidenreich et al., 1983; Waldbillig & Le Roith, 1987).

Für meine Studie von Interesse war nun, herauszufinden, inwieweit der veränderte Wirkmechanismus des Insulin-Analogons Detemir im Vergleich zu Normalinsulin zu neuen Erkenntnissen führt, was insbesondere die Wirkung des Insulins auf die Gehirnaktivität angeht. Es ist bekannt, dass Albumin den Liquor cerebrospinalis über die Epithelzellen des Plexus choroideus erreicht (Hennige et al., 2006). Durch den geringen Anteil des Albumins im Liquor cerebrospinalis (Liquor mmol/kg H₂O = Anteil Protein (g/l): 0,2) erhöht sich die Rate des ungebundenen Anteils des Insulins Detemir im Liquor; somit könnte man schlussfolgern, dass eine größere Menge des nun aktiven Insulins an die Insulinrezeptoren bindet (Hennige et al., 2006; Singer, W. In Klinke & Silbernagl, 1996).

Hennige et al. vermuten, dass zum einen die geringe Albuminkonzentration, wie sie im Liquor vorkommt, als eine der Ursachen für eine erhöhte Gehirnaktivität durch das Insulins Detemir anzusehen sei. Dadurch sei es für das Insulin-Analogon möglich, einen erhöhten ungebundenen und damit wirksamen Anteil im Liquor zu erreichen und somit die Bindung an die Insulinrezeptoren und die Aktivierung der Signalkaskade zu gewährleisten. Des Weiteren scheint die erhöhte Lipophilie von Insulin Detemir überhaupt erst die Passage in die Gehirnflüssigkeit zu erleichtern, da Beobachtungen zeigten, dass unter anderem gerade eine erhöhte Lipophilie und gesteigerte Membran-Permeabilität eines Moleküls genau diesen Effekt bewirken (Hennige et al., 2006).

Der Einfluss des Insulins auf das zentrale Nervensystem (ZNS)

Dass das Gehirn Insulin-sensitiv ist und Insulin eine wichtige Rolle als Neuromodulator einnimmt, belegen Veröffentlichungen aus den Jahren 1992 und 2000, insbesondere von Schwartz et al.. Auf den entscheidenden Einfluss des zirkulierenden Insulins, und zwar auf die Signalfunktion für ein negatives Feedback an das Gehirn sowohl beim Essverhalten als auch bei der Regulation der Energiehomöostase, wiesen Schwartz et al., 1992, Schwartz et al. 2003; Obici et al., 2002, hin. In der bereits erwähnten Studie von Hallschmid et al. konnte der Einfluss des Insulins auf zentralnervöse Effekte anhand von DC-Potentialverschiebungen untermauert werden. Hier zeigte sich der schnelle Effekt von Insulin auf die Gehirnaktivität, der sich in der deutlichen Verschiebung des DC-Potentials in negative Richtung innerhalb weniger Minuten nach Insulinapplikation bei allen Probanden widerspiegeln (Hallschmid et al., 2004).

Darüberhinaus scheint Insulin die Gehirnfunktion zu beeinflussen, indem es zum Beispiel Gehirngewebe vor lokaler Ischämie schützt (Izumi et al., 1992); und laut Wallace et al., 1997, fördert es neuronales Wachstum. Eine Verbesserung der kognitiven Funktionen wurde ebenfalls unter dem Einfluss von Insulin beobachtet. Diesen Zusammenhang zeigten Forschungen zu Morbus Alzheimer. Man fand heraus, dass bei Alzheimer-Patienten die Insulinkonzentration im Liquor vermindert ist – jedoch nicht im Plasma. Diese niedrigere Konzentration im Liquor korrelierte signifikant mit der Schwere ihrer Demenz (Craft et al., 1998). Bereits 1996 beschrieben diese Wissenschaftler, dass unter experimentellen Bedingungen eine induzierte Hyperinsulinämie unter euglykämischen Bedingungen zu einer Verbesserung des Kurzzeitgedächtnisses bei Alzheimer-Patienten führte. Weiter wurde ein regulatorischer Einfluss des Insulins sowohl auf die β -Amyloid-Peptide als auch auf Tau-Proteine beobachtet, die beide als pathologische Grundlagen von Morbus Alzheimer angesehen werden. Die β -Amyloid-Peptide bezeichnen die charakteristischen Eiweißfragmente, die sich zu Amyloid-Plaques zusammenlagern und nachweislich zum Absterben der Neuronen führen. Sie kommen gehäuft bei Alzheimer-Erkrankten vor. Chemisch veränderte Tau-Proteine werden ebenso beobachtet, sie verursachen neurofibrilläre Bündel, so genannte Tau-Fibrillen, die das Zellskelett der Nervenzelle destabilisieren (Boyt et al., 2000; Craft et al., 2000; Gasparini et al., 2001; Qiu et al., 1998; Hong and Lee, 1997; Lesort et al., 1999; Lesort and Johnson, 2000).

Der Einfluss des Insulins auf die Kognition

Dass Insulin sich positiv auf das Gedächtnis des Menschen auswirkt, konnte anhand von Studien gezeigt werden. Kern et al. zeigten eine Verbesserung der kognitiven Funktionen, als sie bei gesunden, männlichen Probanden evozierte Potentiale ableiteten und unter euglykämischen Bedingungen und definierter Insulingabe Gedächtnis- und Konzentrationstests ausführen ließen. Durch Hyperinsulinämie konnte eine Verbesserung der Aufmerksamkeit und der Gedächtnisleistung insbesondere des "short term memory" erzielt werden (Kern et al., 2001).

Unterstützt wurden die Ergebnisse durch weitere Experimente in denen Probanden Insulin intranasal appliziert wurde. Bekannt war, dass Insulin über diesen Weg direkt ins Gehirn-Liquor-Kompartiment gelangt und dadurch nur wenig in den Blutkreislauf aufgenommen wird. Dies spiegelte sich hier ebenfalls wider, indem keine nennenswerten systemischen Nebenwirkungen auftraten. Benedict et al. liefern weiterhin Belege, dass Insulin eine direkte Wirkung auf die Gehirnaktivität ausübt und es zu einer Verbesserung insbesondere des deklarativen Gedächtnisses kommt (Benedict et al., 2004). Sie führten den Effekt auf die Gedächtnisleistung u.a. auf die Verteilung der Insulinrezeptoren in den verschiedenen Gehirnsstrukturen zurück, darunter im Hippocampus und den limbischen Strukturen, die essentiell für die deklarative Gedächtnisleistung sind (Squire, 1992; Eichenbaum, 2001).

Charakterisieren lässt sich die deklarative Gedächtnissform anhand theoretischer Modelle, indem es für erworbenes Wissen und dessen bewussten Abruf steht. Innerhalb des deklarativen Gedächtnisses, so führten verschiedene Autoren aus, (Aggleton & Brown, 1999; Markowitsch, 2000; Tulving & Markowitsch, 1998), könne man zwei Untersysteme annehmen, ein episodisches Gedächtnis, das sich auf sprachlich, räumlich und zeitlich ausgeprägte Ereignisse aus unserem eigenen Leben bezieht („was erlebte ich am Montag letzter Woche in Hamburg?“) und ein semantisches oder Wissensgedächtnis, das unabhängig von Menschen, Orten und Zeit existiert („Der Mars ist ein Planet.“). Das Zentrum des episodischen Gedächtnisses ist autobiographisch (Kluwe et al., 2003). Im deklarativen Gedächtnis sind Fakten und Erfahrungen gespeichert, die leicht wiedergegeben werden können. Diese Wissensform wird typischerweise als besonders bedeutsam für den Lernprozess angenommen. Die wesentliche Funktion des deklarativen Gedächtnis sehen Cohen et al. im Speichern von Relationen zwischen Items an (Cohen et al., 1997), so wird im allgemeinen zur Prüfung des deklarativen Gedächtnisses das Erinnern bzw. Wiedererkennen von Wortpaaren oder Bildern herangezogen, Aufgaben die auch in unserer Studie durch sogenanntes Paar-assoziertes Lernen gestellt wurden. Das nicht-deklarative Gedächtnis wird als dasjenige bezeichnet, in dem vieles unbewusst bleibt. Es ist aber auch das Wissen gespeichert, das durch Übung zu erlernen und zu verbessern ist sowie das nicht-assoziative Lernen und auch Sinneswahrnehmungen. Aufgaben, die in

der vorliegenden Arbeit zur Testung des nicht-deklarativen Gedächtnisses, in dessen Kategorie das prozedurale Gedächtnis fällt, herangezogen wurden, prüften durch das sogenannte Fingertapping insbesondere motorische Fähigkeiten. Über den Gegensatz zwischen deklarativem versus nicht-deklarativem Gedächtnis gibt es weitgehenden Konsens. Die Wurzeln liegen im „wissen was“ als Gegensatz zum „wissen wie“. Grob unterscheiden könnte man unser Gedächtnis in zwei Leistungsklassen: die (deklarative) Wissensleistung und die (prozedurale) Könnensleistung (Kluwe et al., 2003). Die in der vorliegenden Arbeit zu prüfenden deklarativen und prozeduralen Gedächtnisaufgaben sollen Hinweise für eine insulininduzierte Gedächtnisleistungssteigerung liefern. So beschrieben Zhao et al., dass bei fehlendem oder vermindert vorhandenem Insulin, also bei Abnahme des Insulinspiegels, die Gedächtnisleistung verschlechtert ist. Zusätzlich erklärten sie die schlechtere Gedächtnisleistung auch mit einer Abnahme der Insulinrezeptoren. Dieser Mechanismus scheint gleichermaßen bei Gedächtnisstörungen älterer Diabetes mellitus-Patienten vom Typ II als auch bei Morbus Alzheimer-Patienten zu wirken (Zhao et al., 2004). Auf zellulärer Ebene wurden weiterhin eine Reihe von Einflüssen des Insulins auf neuronale Aktivitäten beschrieben. Insulin wirkt laut Palovcik et al. inhibitorisch auf Neuronen im Hippokampus (Palovicik, 1984). Shibata et al. fanden dasselbe für den Hypothalamus heraus (Shibata et al., 1985). Des Weiteren erforschten Johanson und Murphy den Einfluss des Insulins auf den Natriumtransport an der Membran der Epithelzellen des Plexus choroideus (Johanson & Murphy, 1990). Shapiro et al. folgerten daraus, dass das Insulin ursächlich sein könnte für eine neuronale Hyperpolarisation (Shapiro et al., 1991). Nahezu 90% der Zellen des Zentralen Nervensystem und damit fast 50% seines Volumens machen die Gliazellen aus (Robitaille, 1998). Sie bilden das Stützgewebe des ZNS, wobei man Astrozyten, Oligodendrozyten, Ependymzellen, Mikroglia, sowie Zellen des Plexus choroideus als unterschiedliche Gliazelltypen des ZNS differenziert (Mumenthaler & Mattle, 2002). Die Gliazellen regulieren die Homöostase des extrazellulären Milieus und haben damit eine ähnliche Wirkungsweise wie einige Hormone. Diese werden passiv von Kalium (K^+) depolarisiert und aktiv von Glutamat. Kalzium (Ca^{++}) ist ein weiteres wichtiges Ion, welches zusammen mit Glutamat aufgenommen wird. Es wird heute angenommen, dass Gliazellen durch diese drei Ionen (K^+ , Ca^{++} , Glutamat) beeinflusst werden; sie regulieren die neuronale Aktivität der Zellen. Man nimmt an, dass Astrozyten Kalium aus der aktiven Zone des Neurons aufnehmen und dieses in inaktive Regionen überführen (Gardner-Medwin, 1983), sie werden daher als „spatially buffer“ für Kalium betrachtet. Die Aktivität der Gliazellen, insbesondere die der Astrozyten, und der mögliche neuromodulatorische Einfluss der drei genannten Ionen sind für die Studie insofern von Relevanz, da angenommen wird, dass die hierbei ablaufenden Prozesse entscheidenden Anteil an der Entstehung der langsamem Hirnpotentiale haben (Laming, P. In: McCallum & Curry, Eds., 1993).

Transkortikale DC-Potentiale (Gleichspannungspotentiale)

Die neurophysiologischen Grundlagen der DC-Potentiale

Die vertikal angeordneten Pyramidenzellen bilden mit ihren apikalen Dendriten im Neokortex die neurophysiologische Grundlage zur Ableitung von DC-Potentialen. Die Pyramidenzellen machen 85% der kortikalen Neuronen aus (Schüz & Palm, 1989; Braitenberg & Schüz, 1991).

Caspers nahm an, dass es lokale Erregungsschwellen innerhalb apikaler Dendriten geben könne und dass das DC-Potential eine dynamische Balance zwischen Depolarisation und Hyperpolarisation dendritischer Aktivität repräsentiert (Caspers, 1959).

Die apikalen Dendriten erhalten unspezifische Afferenzen, sozusagen den Input aus dem Thalamus und intrakortikalen Fasern. Ohne diese Afferenzen wäre es nicht möglich, Potentiale an der Kopfhaut abzuleiten, da diese als Rhythmusgeber fungieren und so für eine gleichzeitige Entladung aktiver Pyramidenzellen sorgen. Da einzelne Potentiale zu schwach wären, um sie messen zu können, muss man sie, einfach ausgedrückt, bündeln, also gleichzeitig entladen (Birbaumer & Schmidt, 1999).

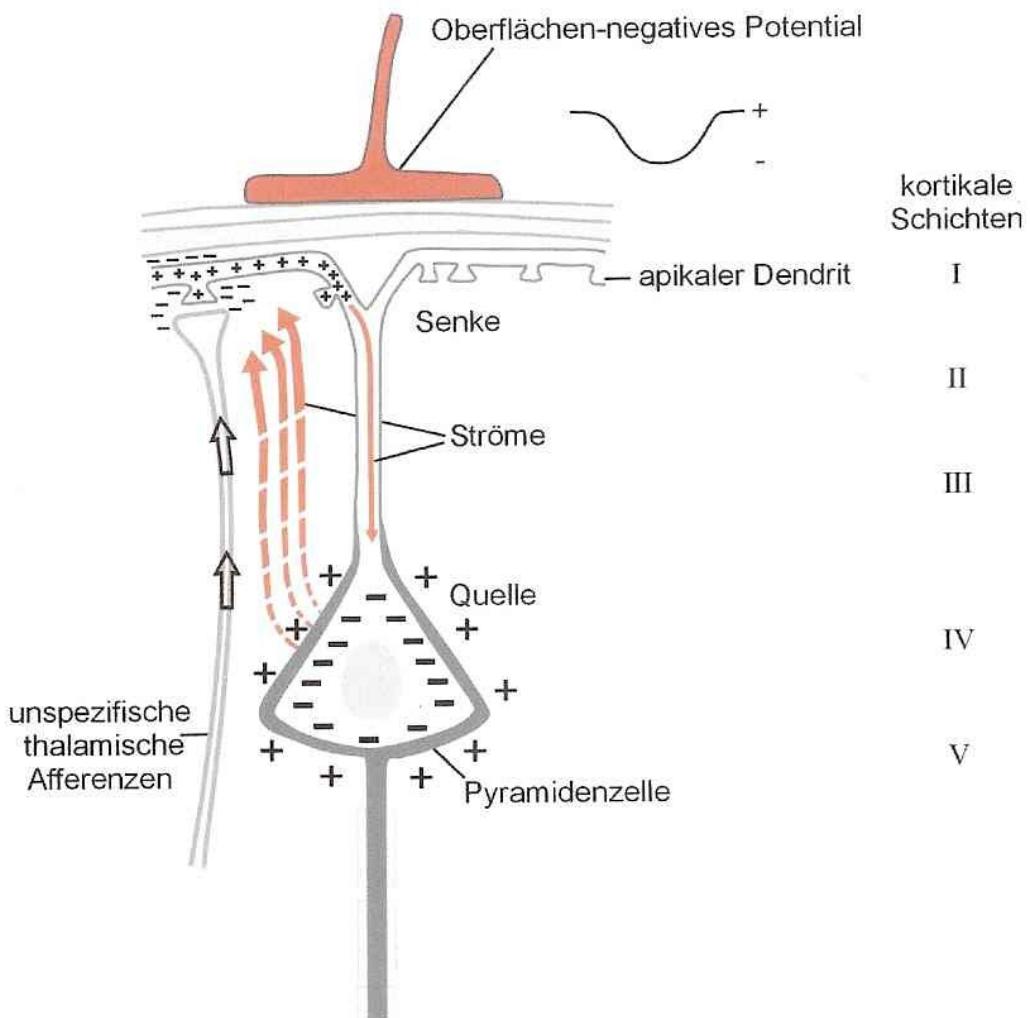


Abbildung 4: Oberflächennegative langsame Hirnpotentiale (LP) werden durch Polarisation des *Kortex* erzeugt, wobei Afferenzen die *apikalen Denditen* von *Pyramidenneuronen* aktivieren. Die extrazellulären Ströme erzeugen an der Kopfhaut messbare Potentiale (aus: Birbaumer & Schmidt, 2003).

Es konnte gezeigt werden, dass eine verstärkte Erregbarkeit (EEG-Desynchronisation) einhergeht mit einer Negativierung der Oberflächenpolarität, während bei verminderter Erregbarkeit genau das Gegenteil geschieht.

Neuronale zerebrale Aktivität

Die langsamten kortikalen Potentiale zählen, wie die bereits erwähnten evozierten Potentiale, zu den ereigniskorrelierten Potentialen. Es ist bekannt, dass sie zeitlich mit einem internen (z. B. Gedanken oder Emotion) oder externen (z. B. physikalischer Reiz) Ereignis korrelieren. Man gewinnt Aufschluss über den momentanen Aktivitätszustand eines bestimmten Hirnareals und damit über den motivationalen Zustand eines

Organismus. In Situationen, in denen eher eine Erwartung besteht oder man sich auf ein künftiges Ereignis vorbereitet, werden negative Potentialverschiebungen registriert. Ein Warnreiz kann beispielsweise signalisieren, dass nach einer bestimmten Zeit ein weiterer Reiz folgen wird, der schließlich zu einer Aktivität führt, zum Beispiel zu einer Entscheidung oder zu einer motorischen Reaktion. Dieser Zustand der Mobilisierung zeigt sich in der Veränderung der DC-Potentiale, was einer Depolarisation der Gehirnzellen entspricht (Rockstroh et al., 1989).

Rockstroh et al. postulierten in ihrem 1982 entwickelten integrativen Modell der langsamen kortikalen Potentiale, dass die gemessene kortikale Negativität für *zerebrale Potentialität* steht; diese steht damit für einen Zustand, in dem ein Ereignis erwartet wird und die entsprechende Verarbeitungskapazität dafür bereitgestellt wird. Bei kortikaler Positivität wird von einem Zustand der *zerebralen Performanz* gesprochen. Diesen erkennt man daran, dass die Verarbeitungskapazität aufgebraucht ist (Rockstroh et al., 1989).

Das Ausmaß der Amplitude der Negativierung hängt von vielen Parametern ab, unter anderem spielen die Aufmerksamkeit und die Motivation der Person eine große Rolle (Rockstroh et al., 1982). Dies wird daran deutlich, dass eine Ablenkung des Probanden (competitive factors) zu einer Verminderung der Negativierung führt (Rowland, 1968).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die langsamen kortikalen Potentiale einen Rückschluss auf den Aktivitätszustand (Depolarisation versus Hyperpolarisation) kortikaler Zellen – apikaler Dendriten – geben und nicht nur Ausdruck einzelner aktivierter Hirnareale sind. Somit ist es möglich – anders als im EEG – die Beeinflussung der Aktivität der Nervenzellen darzustellen. Um eine möglichst genaue Registrierung der langsamen kortikalen Potentialverschiebungen zu erhalten, ist es notwendig, Artefaktquellen (nach Lutzenberger et al. handelt es sich um Potentialverschiebungen, die auf extrazerebrale Quellen zurückzuführen sind) so weit wie möglich auszuschließen. Es gilt insbesondere, die elektrodermale Aktivität, den okulären Einfluss, die Muskelspannung und die Bewegung geladener oder polarisierter Körperteile zu minimieren, da sie als größte biologische Artefaktquellen angesehen werden (Lutzenberger et al., 1985; Rockstroh et al., 1989).

Den größten Widerstand und somit die stärkste Störungsquelle bietet die menschliche Haut. Es hat sich gezeigt, dass die Artefaktquelle „Haut“ durch Punktieren weitgehend eliminiert werden kann – in unserem Fall durch Punktieren der Kopfhaut, bis ein wenig Blut sichtbar wurde – und somit ein direkter Kontakt zwischen Elektrolyt und Gewebeflüssigkeit hergestellt werden kann (Lutzenberger et al., 1985; Hill & Parr, 1963; McCallum & Curry, 1993).

Beim Auge stellt die Fotorezeptorschicht im Augapfel durch Bildung eines Dipols den höchsten Artefakteinfluss dar, weil er bei Augenbewegungen rotiert und somit das kortikale elektrische Potential überlagern könnte. Die okuläre Potentialdifferenz kann z. B. durch Ruhighalten der Augen verringert werden. Abschnitte im EEG, die darauf hinweisen, dass

es zu okulären Einflüssen – Augenbewegungen der Versuchspersonen – kam, werden regressionsanalytisch korrigiert (Trimmel, 1990).

Eine bequeme Sitzhaltung ist Garant dafür, die Muskellspannung und die Bewegungen als mögliche Artefaktquelle auszuschließen. Eine weitere Störungsquelle könnten Bewegungen der Elektrode auf der Kopfhaut sein. Das kann man dadurch umgehen, indem die Elektroden auf mit isotonischem Elektrolyt gefüllte Sockel gesetzt werden (Niedermeyer & Lopes da Silva, 1998). Um ein chemisches Ungleichgewicht an den Kontaktstellen – Elektrode und Elektrolyt bzw. Elektrolyt und Haut – zu verhindern, da es ebenfalls ein Störpotential darstellen könnte, wird bevorzugt ein Elektrodenmaterial gewählt, das sich aus einem Metall und einem Salz zusammensetzt (Girton & Kamiya, 1974).

Der Einfluss des Insulins auf DC-Potentiale

Vorgängerstudien liefern Daten, dass die intravenöse Insulin Applikation schon nach 7 Minuten zu einer anhaltenden Negativierung der DC-Potential führte. Diese Effekte beobachtete man an gesunden männlichen Probanden, die intravenös eine Insulin Bolusinjektion von 0,1 U/kg Körpergewicht erhielten. Um unterschiedliche Wirkungen des Insulins auf die Gehirnaktivität differenzieren zu können, wurden die Teilnehmer auf drei Gruppen randomisiert verteilt. In der einen Gruppe durften die Blutzuckerspiegel in den hypoglykämischen Bereich bis 40 mg/dl fallen, euglykämische Bedingungen definierten die zweite Gruppe, während die dritte Gruppe eine Placeboinfusion erhielt. Hierbei konnte gezeigt werden, dass starke Negativierungen von bis zu -600 μ V zwischen der 40. und 50. Minute nach Insulinapplikation in der euglykämischen Bedingung erreicht wurden. Eine Negativverschiebung trat ebenfalls in der hypoglykämischen Bedingung auf, jedoch war sie unter euglykämsichen Bedingungen stärker ausgeprägt. Die Analysen der Zeitpunkte spiegeln für die euglykämische Bedingung nach der siebten Minute eine Signifikanz im Vergleich vom Grundlinienniveau sowie nach zehn Minuten eine Signifikanz gegenüber der Placebo-Bedingung wider. Für die hypoglykämische Bedingung zeichnete sich eine Signifikanz gegenüber dem Grundlinienniveau erst ab der 17. Minuten ab (Hallschmid et al., 2004).

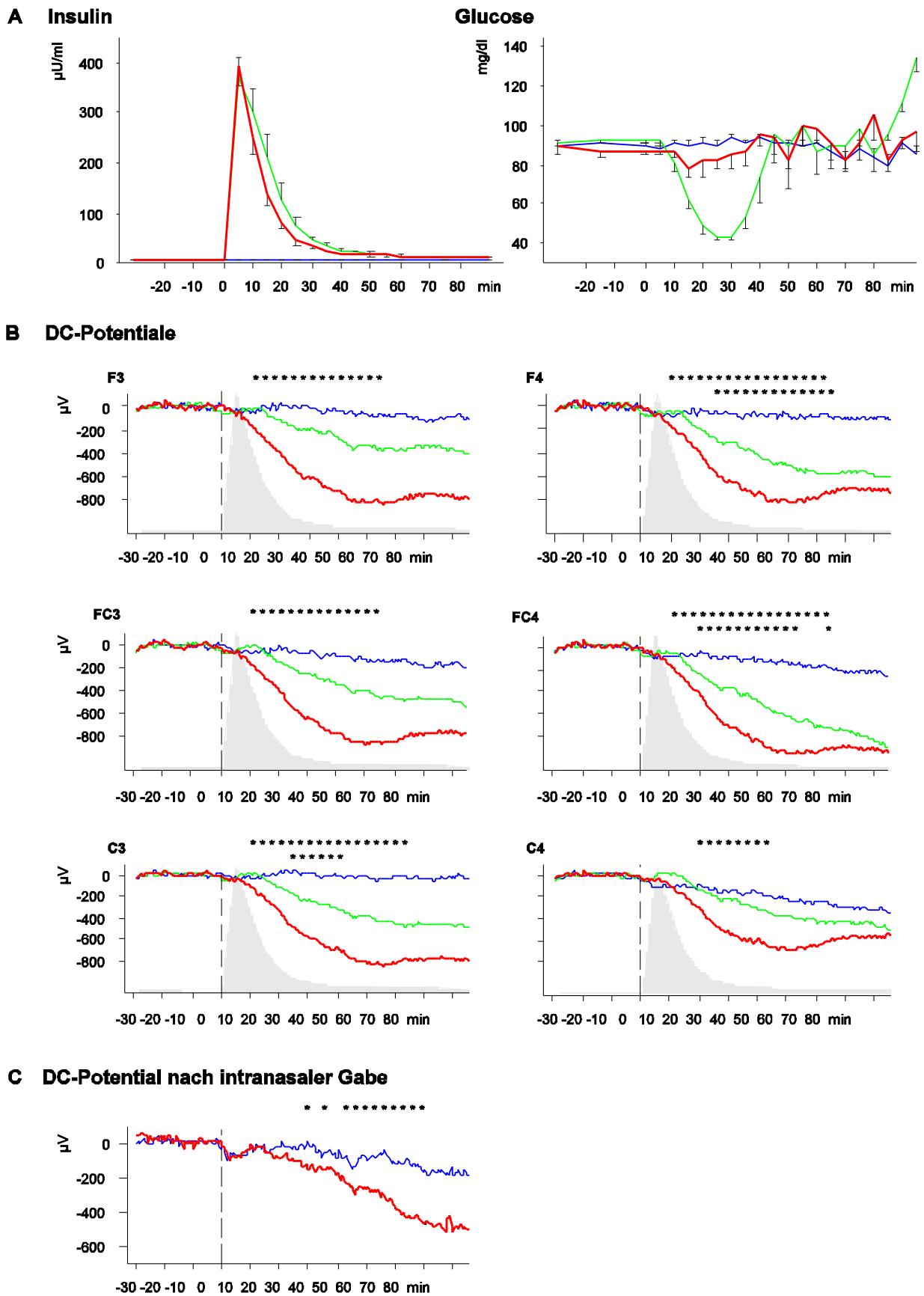


Abbildung 5: Plasmainsulin- und Plasmaglukosespiegel und DC-Potentiale.

A: Durchschnittliche (\pm SEM) Plasmakonzentrationen von Insulin (links) und Glukose (rechts) von 30 min vor bis 90 min nach der Injektion von Insulin und Placebo (zum Zeitpunkt 0 min).

B: Durchschnittliche DC-Potentiale (über alle Probanden gemittelt), die im selben Zeitraum mit links beziehungsweise rechts angebrachten Elektroden über frontalen (F3 und F4), frontozentralen (FC3 und FC4) und zentralen (C3 und C4) kortikalen Arealen abgeleitet wurden. Unter einer Bedingung (Insulin-Eu, rote Linien) wurden die Effekte des Insulins auf die Plasmaglukosekonzentrationen durch Glukoseinfusionen aufgefangen ($n = 8$). Unter der anderen Bedingung (Insulin-Hypo, grüne Linien) wurde die Hypoglykämie nach Insulingabe nicht verhindert ($n = 7$). Unter der Placebo-Bedingung (blaue Linien) wurde zum Zeitpunkt

$t = 0$ Salzlösung injiziert ($n = 7$). Das durchschnittliche Potential während der Grundlinie wurde auf 0 μ V gesetzt. Die Sternreihen geben die Signifikanzen ($p < 0.05$) für die punktweisen Vergleiche zwischen den Potentialverläufen der Placebo-Bedingung und der Insulin-Eu-Bedingung (obere Reihe) beziehungsweise der Insulin-Hypo-Bedingung (untere Reihe) an. Die Schattierungen geben den Zeitverlauf der Insulin-Plasma-Konzentration unter der Insulin-Eu-Bedingung an.

C: Das über alle Ableitepositionen und Probanden gemittelte DC-Potential nach intranasaler Gabe von 0,6 ml (60 IU) Insulin (rote Linie) beziehungsweise Placebo (blaue Linie) zum Zeitpunkt $t = 0$ ($n = 7$). Signifikante Unterschiede zwischen den Bedingungen sind angezeigt ($p < 0,05$, einseitiger t-Test) (Hallschmid et al., 2004).

Die Ergebnisse der Vorgängerstudie machen deutlich, dass die intravenöse Applikation von Insulin zu einer schnellen Negativierung des DC-Potentials führt und dieser Effekt am eindruckvollsten unter konstanten Blutzuckerspiegeln d.h. unter euglykämischen Bedingungen erreicht wird. Somit wird deutlich, dass die Verschiebung der Potentiale nicht von einer systemischen hypoglykämischen Wirkung abhängig ist.

Vor diesem Hintergrund sollte in unserer Studie ebenfalls der akute Einfluss intravenös applizierten Insulins auf das DC-Potential beobachtet werden, wobei zusätzlich zu der vorangegangenen Studie die Applikation eines Insulin Analogons möglicherweise stärkere Effekte auf die DC-Potentiale erzielen sollte.

Fragestellungen und Zielsetzung

Für unsere Studien stellten sich folgende Fragen:

- Hat Insulin Detemir aufgrund seines Wirkprinzips, unter anderem aufgrund seiner ausgeprägteren Lipophilie, einen größeren Einfluss auf die Gehirnaktivität als Normalinsulin?
- Führt Insulin Detemir zu stärkeren Negativierungen der DC-Potentiale als sie bisher nach intravenöser Gabe von Normalinsulin beobachtet wurde?
- Wirkt sich intravenös verabreichtes Insulin Detemir auf die Gedächtnisleistung anders aus als in Experimenten mit Normalinsulingaben an gesunden Probanden?
- Kann insbesondere das deklarative Gedächtnis durch intravenös verabreichtes Insulin Detemir stärker verbessert werden, als dieses schon bei Normalinsulin (i.v.) gezeigt wurde?

Aus diesen Fragen ergab sich das Konzept für unsere Studie, nämlich die Verabreichung von Normalinsulin und die Gabe von Insulin Detemir und deren jeweilige Auswirkungen auf die DC-Potentiale bei gesunden männlichen Probanden zu vergleichen und zu analysieren. Uns ging es darum zu ermitteln, ob die bei Normalinsulin bereits zu beobachtende Negativierung der DC-Potentialverschiebungen bei Insulin Detemir stärker wären. Der Einfluss der jeweiligen Insulin-Bedingung sollte des Weiteren durch die Ausführung von spezifischen Gedächtnistests analysiert werden, um Erkenntnisse darüber zu gewinnen, inwieweit insbesondere Insulin Detemir zu einer Verbesserung der kognitiven Gedächtnisleistung führen könnte. Die Analyse der Blut-Hormon-Spiegel sollte Aufschluss darüber geben, welche peripheren Wirkungen die jeweils gewählten Insulin-Dosierungen haben würden. Auch subjektive Empfindungen der Probanden sollten unter den beiden Bedingungen dokumentiert werden und in die Ergebnisse mit einfließen.

2. Material und Methoden

Probandenkollektiv

Auswahlkriterien

Zugelassen zu den Versuchen wurden gesunde, männliche Probanden im Alter zwischen 18 und 35 Jahren. Ausschließlich normalgewichtige Probanden konnten am Versuch teilnehmen; das Normalgewicht wurde mit einem Body Mass Index (BMI) zwischen 19 und 25 definiert.

Die Studienteilnehmer sollten Nichtraucher sein oder weniger als drei Zigaretten am Tag rauchen. Folgende Erkrankungen galten als Ausschlusskriterium: bekannte psychiatrische, neurologische, kardiovaskuläre, pulmonale, endokrinologische und gastrointestinale Erkrankungen und/oder arterieller Hypertonus, Fettstoffwechselstörung, Hyperlipoproteinämie. Die regelmäßige Einnahme von Medikamenten sowie Schichtarbeit oder Nachtwachen waren ebenfalls Ausschlusskriterien für eine Teilnahme an der Studie.

Eingangsuntersuchung

Vor der Teilnahme an der Studie wurde eine Voruntersuchung für die Probanden vereinbart, um eine Anamnese anhand eines standardisierten Fragebogens zu erheben und um eine orientierende körperliche Untersuchung durchzuführen. Wichtige Einschlusskriterien für die Studie wurden hierbei bestimmt, dazu zählten Größe und Gewicht zur Berechnung des BMI sowie eine Routinelaboruntersuchung. Probanden mit Auffälligkeiten in der Anamnese, der körperlichen Untersuchung oder auch bei den Blutparametern konnten an der Studie nicht teilnehmen.

Hinweise an die Teilnehmer

Das Ziel der Studie, nämlich den Einfluss von Insulin Detemir/Normalinsulin auf die kortikale Erregbarkeit und auf die Gedächtnisleistungsfähigkeit zu untersuchen, wurde den Probanden vermittelt. Am Vortag sollten die Probanden ab 22 Uhr keine Nahrung mehr zu sich nehmen, um nüchtern am Versuch teilnehmen zu können. Trinken von ungesüßtem Kräutertee und Mineralwasser waren erlaubt; koffeinhaltige oder alkoholische Getränke hingegen waren 12 Stunden vor Untersuchungsbeginn nicht gestattet. Die Teilnehmer wurden über den Ablauf der Studie informiert und gaben ihr schriftliches Einverständnis zu Blutuntersuchungen, Registrierung von DC-Potentialen, Gedächtnistests, Empfindlichkeitstests und zur Gabe beider Insuline.

Entsprechend der Deklaration von Helsinki wurde die Studie vor der Durchführung der Experimente von der Ethik-Kommission der Universität zu Lübeck geprüft und genehmigt.

Studienteilnehmer

Zugelassen für die Studie wurden 15 Teilnehmer, wovon die Ergebnisse von 11 Teilnehmern in die endgültige Auswertung kamen. Der durchschnittliche Body Mass Index (\pm SEM) betrug $23,1 \pm 0,5$ Kg/m², das durchschnittliche Teilnehmer Alter (\pm SEM) lag bei $28,5 \pm 1$ Jahren. Technische Störungen bei der DC-Potentialregistrierung waren ein wesentlicher Grund, Probanden aus der Wertung zu nehmen.

Allgemeine Planung

Die Probanden erhielten in einer randomisierten, einfach-blind durchgeführten Studie Normalinsulin oder Insulin Detemir, und zwar an zwei verschiedenen Tagen jeweils vormittags, wobei der Mindestabstand zwischen den Untersuchungstagen eine Woche betrug. In einem euglykämischen Clamp-Versuch erhielten die Probanden initial eine intravenöse Bolusinjektion von 17,75 mU/kg Normalinsulin bzw. 90 mU/kg Insulin Detemir gefolgt von einer Insulindauerinfusion von 1,0 mU/kg/min Normalinsulin bzw. 2,0 mU/kg/min Insulin Detemir.

20 Minuten vor Substanzgabe und 90 Minuten während der Applikation der jeweiligen Substanz wurden Gleichspannungspotentiale registriert. Ein Einfluss der Insuline auf die deklarative Gedächtnisleistung wurde durch Abfragen assoziierter Wortpaar-Listen (PAL) ermittelt, das prozedurale Gedächtnis wurde durch Fingertapping erfasst. Das subjektive Befinden der Probanden wurde anhand von Eigenschaftswörterlisten (EWL-K), einer Bipolarskala und einer Ratingskala ermittelt. Die Gedächtnistests sowie die Empfindlichkeitstests wurden vor und nach Applikation von Normalinsulin oder Insulin Detemir bzw. direkt vor und nach der DC-Potentialregistrierung durchgeführt. Erläuterungen zu den jeweiligen Tests erfolgen an späterer Stelle. Im Anschluss an die Versuchsdurchführung erhielten die Teilnehmer ein standardisiertes Frühstück, hiernach galt es ein letztes Mal Angaben zum subjektiven Empfinden zu machen.

Studienablauf

Nach dem Zufallsprinzip wurde ermittelt, an welchem von den beiden Tagen die Versuchsteilnehmer jeweils das Insulin Detemir oder Normalinsulin erhalten sollten; das Zufallsprinzip galt auch für die Auswahl der unterschiedlichen Gedächtnistests, die in zwei Versionen vorlagen. Der Untersuchungsablauf an den beiden Tagen war wie folgt aufgebaut: die einzelnen Probanden trafen um 8 Uhr morgens ein. Sie wurden in einem separaten, schalldichten Raum untergebracht, der über eine kleine Wandöffnung mit dem Labor verbunden war. In diesem separaten Raum stand ein Bett für den Probanden zur Verfügung. Persönliche Gegenstände wie Uhr oder Handy waren nicht zulässig. Zusätzlich

gab es eine Videokamera und eine Gegensprechanlage. Der Versuchsperson wurden nach Kontrolle der Vitalzeichen und der vorgegebenen Werte (Alter, Gewicht, Größe und Nüchternheit) die intravenösen Zugänge gelegt.

Zwei intravenöse Kunststoff-Verweilkanülen (Braunülen) wurden im Bereich der Unterarme gelegt. Über die Braunüle im linken Unterarm wurde nach zeitlicher Protokollvorgabe Blut gewonnen. An den intravenösen Zugang im rechten Unterarm wurde ein Dreiwegehahnsystem angeschlossen zur Insulin- und Glukosegabe. Die Blutabnahmen und Infusionen wurden über 2 m lange, 1 x 2 mm dünne Kunststoff-Infusionsschläuche (Combidyn Druckschlauch, Pressure Monitoring Tubing PE 1 x 2 mm, 200 cm, transparent, B. Braun Melsungen AG, Germany) durchgeführt. Parallel erhielten die Probanden über das Dreiwegehahnsystem eine Elektrolytlösung (Ringerlaktat) zur Regulierung ihres Flüssigkeits- und Elektrolythaushaltes.

Die Schläuche führten durch eine schmale Öffnung in der Wand in den benachbarten Laborraum. Somit waren die Infusionsgaben und Blutentnahmen aus der Distanz möglich; der Proband wurde davon kaum tangiert. Das so gewonnene Blut wurde in Kühlboxen gesammelt, um es anschließend nach standardisierter Vorgabe zu zentrifugieren. Um möglichst arterialisiertes Blut für die Analyse zu gewinnen, wurde der linke Arm (Blutentnahme) in ein 55 °C warmes Wärmekissen eingewickelt; zusätzlich wurde dieser Zugang bis zum Beginn der DC-Potentialregistrierung mit einer Natrium-Chlorid-Infusion (NaCl 0,9%, Berlin-Chemie, Berlin) gespült, um einen Verschluss der Braunüle zu vermeiden. Im Anschluss daran wurden die Elektroden für die DC-Ableitung platziert.

DC-Potential Registrierung

In der Vorbereitungsphase wurde die Kopfhaut der Probanden mit einer alkoholischen Lösung (Cutasept®, Bode Chemie, Hamburg) gereinigt, und anschließend wurden die insgesamt acht Elektrodensockel an der gereinigten Kopfhaut mit Kollodium fixiert. Um weitere Widerstände der Haut zu reduzieren, wurde die Kopfhaut an der Stelle der bereits fixierten Elektrodensockel mit einer kleinen Nadel punktiert, um die Sockel im Anschluss mit Elektrodengel (Lectron III-Gel, G EliMed, Bad Segeberg) aufzufüllen. Die Elektroden (non polarizable Ag/AgCl electrodes, 8 mm diameter, In vivo Metric, Healdsburg, CA) wurden auf den Sockeln befestigt (Clips). Im Vorwege waren diese paarweise über Nacht mit Elektrodengel gefüllt und miteinander verbunden worden, um Potentialschwankungen zu reduzieren.

Des Weiteren wurden die Elektroden mindestens 30 Minuten vor Aufnahmebeginn auf den Sockeln befestigt. Dies diente der Stabilisierung des Haut-Elektrolyt-Elektroden-Systems. Die Vorbereitung für die Gesichtselektroden umfasste eine gründliche Reinigung der Hautstellen mit Cutasept® und einer Peelingpaste. Danach wurden die Elektroden durch

Elektrodenklebekreise auf der jeweils vorgegebenen Position fixiert am Kopf folgendermaßen positioniert:

Frontal links (F3) und frontal rechts (F4), Frontozentral (FC3, FC4), Zentral (C3, C4)

Die beiden Referenzelektroden waren jeweils am Mastoid (M1, M2) angebracht.

Den Gesichtselektroden entsprachen an den Augen ein horizontales und vertikales

Elektrookulogramm (H1, H2, V1, V2) und am Kinn ein Elektromyogramm.

Die entsprechenden Elektrodenkabel wurden zum SynAmps DC-Verstärker (Low Pass

Filter, 30 Hz; Frequenzfilter von 100 Hz; NeuroScan, Herndon, VA) geführt, der sich am

Kopfende des Bettes befand. Die gewonnenen Daten wurden auf dem Labor-Laptop im

Nachbarraum angezeigt. Nach circa einer Stunde Vorbereitungszeit führten die Probanden gegen 9 Uhr die ersten Gedächtnistests und Empfindlichkeitstests vor Substanzgabe durch.

Gedächtnistests

Paar-assoziiertes Lernen (PAL)

Durch das Paar-assoziierte Lernen erhält man Rückschlüsse auf die deklarative Gedächtnisleistung. In einer ersten Lernphase wurde den Probanden auf einem Computermonitor im Abstand von circa 5 Sekunden Dauer hintereinander einzelne Wortpaare präsentiert, die jeweils inhaltlich miteinander verbunden waren – beispielsweise Berg/Tal. Nach diesem Durchlauf erfolgte die Abfragerunde, in der nur jeweils das erste Wort des Paares auf dem Monitor angezeigt wurde. Der Proband musste das dazugehörige Wort laut nennen. Danach konnte er erst die Lösung des vorher abgefragten Wortpaars durch Drücken der Leertaste sehen und sich noch einmal einprägen. Nach wenigen Sekunden ging es automatisch zum nächsten Wortpaar über. Eine Lernrunde konnte bis zu drei Durchgänge umfassen, da es galt, mindestens 24 von 40 Wortpaaren zu erinnern. In der Abfragerunde – auch als recall bezeichnet – die auf einen Durchgang begrenzt war und zeitlich nach der Infusionsgabe und der DC-Aufnahme angesetzt war, wurden auf dem Monitor nur die einzelnen Wortpaare abgefragt; es folgte keine weitere Lerneinheit. Die Anzahl der richtig genannten Wortpaare wurde notiert; eine Mindestanzahl war hierbei nicht gefordert. Bei der Auswertung der Wortlisten (PAL) gingen die Anzahl der richtig genannten assoziierten Wortpaare des letzten Durchganges der Lernrunde und die Anzahl der Wortpaare bei der Abfragerunde ein.

Fingertapping

In diesem Test ging es darum, eine motorische Fingersequenz so schnell und so fehlerfrei wie möglich in ständiger Wiederholung durchzuführen. Getestet werden sollte durch diese sensomotorische Aufgabe insbesondere die prozedurale Gedächtnisleistungsfähigkeit. Die Probanden führten die Sequenz mit der nicht dominanten Hand aus. Jeder Finger – mit Ausnahme des Daumens – wurde einer bestimmten Taste auf einer Tastatur zugeordnet; und es durfte auch nur diese Taste gedrückt werden. Dazu wurde auf dem Bildschirm die jeweils nachzuvollziehende Sequenz abgebildet. Hier hatte der Proband eine Lernzeit von neun Blöcken á 30 Sekunden Dauer, gefolgt von drei weiteren Blöcken á 30 Sekunden Dauer. Diese letztgenannten bildeten die Grundlage der Auswertung vor der Insulingabe. Drei weitere Blöcke wurden nach Insulingabe durchgeführt und bildeten den zweiten Teil der Auswertung. Die Sequenzen lagen in zwei Versionen vor für jeden Versuchstag eine. Die letzten drei Blöcke der Lernrunde beim Fingertapping sowie die drei Blöcke der Abfragerunde wurden auf die Richtigkeit der vorgegebenen Sequenz hin und auf die Anzahl der richtig getippten Sequenzen pro Proband analysiert. Die vorhergehend geübten Sequenzen in der Lernrunde gingen nicht in die Wertung ein.

Empfindlichkeitstests

Eigenschaftswörterliste (EWL-K)

Die Probanden wurden gebeten, Eigenschaftswörter zu markieren, die für sie augenblicklich zutreffend erschienen. Hierzu dienten Eigenschaftswörterlisten (Janke & Debus, Verlag Hogrefe, 1978) mit insgesamt 123 Adjektivpaaren. Diese Listen ermöglichen eine quantitative Beschreibung der aktuellen Befindlichkeit, Veränderungen des Befindens, hervorgerufen beispielsweise durch Stresssituationen, können durch EWL-K Listen differenziert werden. Sie wurden vor und nach der Substanzgabe sowie nach dem Verzehr des Frühstücks ausgefüllt.

Bipolarskala

Die Versuchsteilnehmer wurden aufgefordert, eine weitere Reihe von Adjektivpaaren je nach aktueller Befindlichkeit anzukreuzen. Die jeweiligen Paare bildeten zwei Pole einer Zustandsbeschreibung und wurden jeweils einer Skala (2 – 1 – 0 – 1 – 2) zugeordnet. 0 = zentral stehend kam einer gleich starken Ausprägung beider Pole gleich, 2 und 1 standen jeweils für eine starke bzw. mittelstarke Ausprägung eines Pols. Die Bipolarskala dient zur Beurteilung der augenblicklichen Stimmungslage der Probanden (Pietrowsky et al., 1989). Die Liste wurde wiederum vor und nach der Insulinapplikation und ein drittes Mal nach der Frühstückseinnahme ausgefüllt.

Ratings

Weitere Angaben über den augenblicklichen Zustand gaben die Probanden anhand einer Ratingskala über die drei Parameter Durst, Hunger und Müdigkeit auf einer Skala von 1 bis 10 (mit 1 = niedrigster Wert und 10 = höchster Wert).

Diese mündlichen Angaben wurden von den Versuchsleitern protokolliert, und zwar wiederum vor Insulingabe, nach Durchführung des Versuches und ebenfalls nach dem Frühstück.

Nach der Durchführung der Tests wurde der jeweilige Proband gebeten, sich auf das Bett zu setzen, sich während der DC-Registrierung möglichst wenig zu bewegen und während der Aufnahmezeit wach zu bleiben und die Wand vor sich zu fixieren. Gestützt wurde der Kopf des Versuchsteilnehmers durch eine Halsmanschette. Der Wachzustand wurde dadurch kontrolliert, dass der Teilnehmer regelmäßig (nach gefühlten 30 Sekunden) per Maustastendruck ein Signal zu geben hatte, das auf dem Labor-Laptop angezeigt wurde. Vor Aufnahmebeginn wurden die Impedanzen der Elektroden kontrolliert, die auf dem Labor-Laptop sichtbar wurden. Die Widerstände der einzelnen Elektroden durften nicht mehr als 5 kΩ messen und wurden bei Überschreiten ausgebessert und erneut geprüft.

Um 9.30 Uhr wurde mit der Aufnahme der DC-Potentiale begonnen. Die ersten zwanzig Minuten dienten als Grundlinienphase (baseline phase: -20 bis +0 Minuten).

Danach (Versuchszeit: +0) wurde der Insulinbolus appliziert: 17,75 mU/kg Normalinsulin (Actrapid®, Novo Nordisc Pharma, Mainz, Germany) bzw. 90 mU/kg Insulin Detemir (Levemir®, Novo Nordisc Pharma, Mainz, Germany). Anschließend wurde eine dauerhafte Insulinmenge infundiert. Für die Normalinsulin-Bedingung galt eine Rate von 1,0 mU/kg/min und für die Insulin Detemir-Bedingung wurde eine Rate von 2,0 mU/kg/min errechnet. Die Probanden erhielten zudem eine 20%ige Glukoselösung (Glukoselösung 20%, Deltama, Pfullingen, Deutschland), um deren Blutzucker im euglykämischen Bereich zu halten. Die Bestimmung des Blutzuckers erfolgte alle fünf Minuten mittels eines Analyzers (Beckman Instruments, Inc., Palo Alto, CA, USA), die Glukoseinfusionsrate wurde nach dem gemessenen Wert bestimmt. Die Bestimmung von Plasmainsulin und -glukosespiegel, Glukagon, ACTH, Cortisol und Elektrolyte erfolgte nach Protokoll alle 5 - 15 Minuten durch Blutentnahmen.

Die DC-Potentialaufzeichnung lief kontinuierlich über neunzig Minuten weiter. Geringe Schwankungen der DC-Potentiale waren konstant unter 5 µV/h.

Nach 90-minütiger Aufnahmezeit wurde die Insulingabe eingestellt und die Aufnahme beendet. Die Glukosegabe wurde bis dreißig Minuten nach Erreichen eines stabilen Blutzuckerwertes ohne externe Kohlenhydratzufuhr fortgesetzt.

Die Gedächtnistests, Ausfüllen der Adjektiv-Listen und ebenso die Abfragen nach Hunger, Durst und Müdigkeit wurden nach Beendigung der Aufnahme erneut durchgeführt. Ein standardisiertes Frühstück (die Komponenten wurden vorher und nachher gewogen) wurde den Probanden serviert. Ratings und die Listen wurden nach dem Frühstück ein letztes Mal ausgefüllt. Bei gutem Blutzuckerwert konnte die Versuchsperson gegen 14 Uhr nach Hause entlassen werden.

Labormethoden

Ermittlung der Blut-Hormon-Spiegel

Das gewonnene Blut wurde in vorgekühlten Polystyrolröhren (EDTA-/Serumröhren) gesammelt und anschließend kühl gelagert. Die Blutproben wurden spätestens nach 20 Minuten bei 4 °C mit 1000 bzw. 2800 x g zentrifugiert (Sigma ZK 15, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Germany) und in 1,5 ml große Eppendorf-Gefäße pipettiert. Die gewonnenen Proben wurden eingefroren und bis zur Assay-Durchführung in Kühltruhen bei -80 °C gelagert.

Mittels der Glukoseoxidase-Methode (Glucose Analyzer II Beckman Instruments, Inc., Palo Alto, CA) wurde in einer Doppelbestimmung die Plasmaglukose-Konzentration ermittelt. Und zwar mit einem Inter-Assay-Variationskoeffizienten (VK) von ≤ 2,6% und einem Intra-Assay-VK von ≤ 1,8% gemessen. Mit Hilfe eines immunometrischen Assays (ILMA; Inter-Assay-VK <5,1%, Intra-Assay-VK <3,2%; LUMI test ACTH, Brahms Diagnostica, Berlin, Germany) wurde die ACTH- Konzentration im Plasma bestimmt. Der enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) wurde zur Bestimmung der Serumkonzentration des Cortisol herangezogen (Enzymun-Test Cortisol, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany, Inter-Assay-VK von <3.9 und einem Intra-Assay-VK von <2.0%).

Insulinbestimmungen

Routine-Assays dienten zur Bestimmung der Konzentration des Insulins im Serum (Pharmacia Insulin RIA 100, Pharmacia Diagnostics, Uppsala, Sweden, Inter-Assay-VK <5.8%; Intra-Assay-VK <5.4%).

In der klinischen Chemie wurden die Elektrolyte bestimmt: Kalium, Natrium, Chlorid und Kalzium.

Statistische Analyse

Mittels Varianzanalyse (ANOVA) wurden sowohl die Bluthormone als auch die Werte der ermittelten DC-Potentiale bestimmt. Alle Ergebnisse wurden als Mittelwerte ± Standardfehler präsentiert. Der Student-t-Test für verbundene Stichproben wurde für paarweise Vergleiche, der McNemar-Test für nichtparametrische Vergleiche verwendet. Wo erforderlich, wurden die Ergebnisse nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert.

Auswertung der DC-Potentiale

t-Tests wurden für die Punkt-für-Punkt-Vergleiche zwischen den beiden Bedingungen herangezogen, um signifikante Unterschiede im DC-Potential zu ermitteln. Nach der Methode von Guthrie und Buchwald sowie Abt wurde im punktweisen Vergleich für

mindestens eine Elektrode die Anhäufung statistischer Signifikanzen für die jeweiligen Zeitspannen erhoben (Abt, 1983; Guthrie & Buchwald, 1991).

Auswertung der Gedächtnistests

Die kognitiven Tests wurden mittels einer Varianzanalyse (ANOVA) statistisch ausgewertet unter Berücksichtigung folgender Faktoren: Zeit (Grundlinie, +95.Minute, +195.Minute) sowie Behandlung (Normalinsulin vs. Detemir).

Auswertung der Empfindlichkeitstests

EWL-K Listen

Die 123 aufgelisteten Eigenschaftswörter waren insgesamt 14 Subskalen zugeordnet: Aktivität, Desaktivität, Müdigkeit, Benommenheit, Extrovertiertheit, Introvertiertheit, Selbstsicherheit, Stimmung, Erregung, Empfindsamkeit, Ärger, Ängste, Depressivität und Vertrauen. Die als zutreffend in der EWL-K Liste angekreuzten Adjektive wurden mittels einer Schablone ausgewertet und der jeweiligen Subskala zugeordnet. In die Gesamtwertung ging jeweils der prozentuale Anteil der als zutreffend markierten Adjektive an der jeweiligen Subskala ein und gab Aufschluss über die jeweilige Stimmungslage der Teilnehmer.

Bipolarskala

Die zu den jeweiligen Adjektivpaaren gebildeten Pole wurden in der Auswertung einem Zahlenrang von 1–5 zugeordnet. Die statistische Auswertung erfolgte mittels einer ANOVA Analyse und umfasste die Faktoren: Behandlung (Detemir vs. Normalinsulin) und Zeit (Grundlinie, +95.Minute, +195.Minute).

Ratings

Für die jeweilig genannten Stufen auf der Ratingskala für die drei vorgegebenen Parameter wurde der Mittelwert \pm Standardfehler gebildet.

Die drei genannten Testverfahren zur Bestimmung des subjektiven Empfindens der Probanden wurden wie die kognitiven Tests mittels ANOVA statistisch ausgewertet. Ein P-Wert $< 0,05$ wurde als signifikant angesehen.

3. Eigene Untersuchungen

Blutzuckerspiegel und Plasmaglukosespiegel unter Insulingabe

Die Blutzuckerspiegel verliefen während der Dauer der Aufnahmeperiode unter der verabreichten Insulindauerinfusion konstant und zeigten mit dem Verzehr des Frühstücks den erwarteten Anstieg. Sie wiesen zwischen den Bedingungen keine signifikanten Unterschiede auf. Dies ergab die Auswertung der ANOVA für den Faktor *Behandlung* $F(1,14)=0,95$, $P=0,34$ ebenso für die *Behandlung x Zeit-Interaktion*: $F(4,63)=0,97$, $P=0,43$.

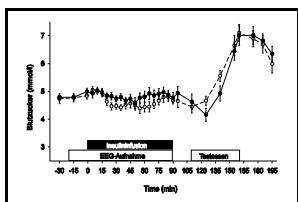


Abbildung 6: Kurvenverlauf der durchschnittlichen Blutzuckerkonzentration in dem Zeitraum dreißig Minuten vor der Insulingabe und vor der DC-Potentialregistrierung, während der gesamten Registrierungszeit und der Insulindauerinfusion von neunzig Minuten, sowie nach der Frühstücksgabe bis zur +195. Minute.

Die Glukoseinfusion gewährleistete in beiden Bedingungen stabile Blutzuckerspiegel. Die Glukoseinfusionsrate war in beiden Bedingungen vergleichbar ($F(5,69)=1,7$; $P>0,14$ Behandlung x Zeit; Abbildung 7), was zeigt, dass die periphere Insulinwirkung in beiden Bedingungen gleich ausgeprägt war. Dies wird gleichermaßen an der insgesamt verabreichten Glukosemenge deutlich, die in der Detemir-Bedingung ebenso hoch wie in der Normalinsulin-Bedingung war ($239,53\pm25,00$ vs. $240,83\pm23,34$ kcal).

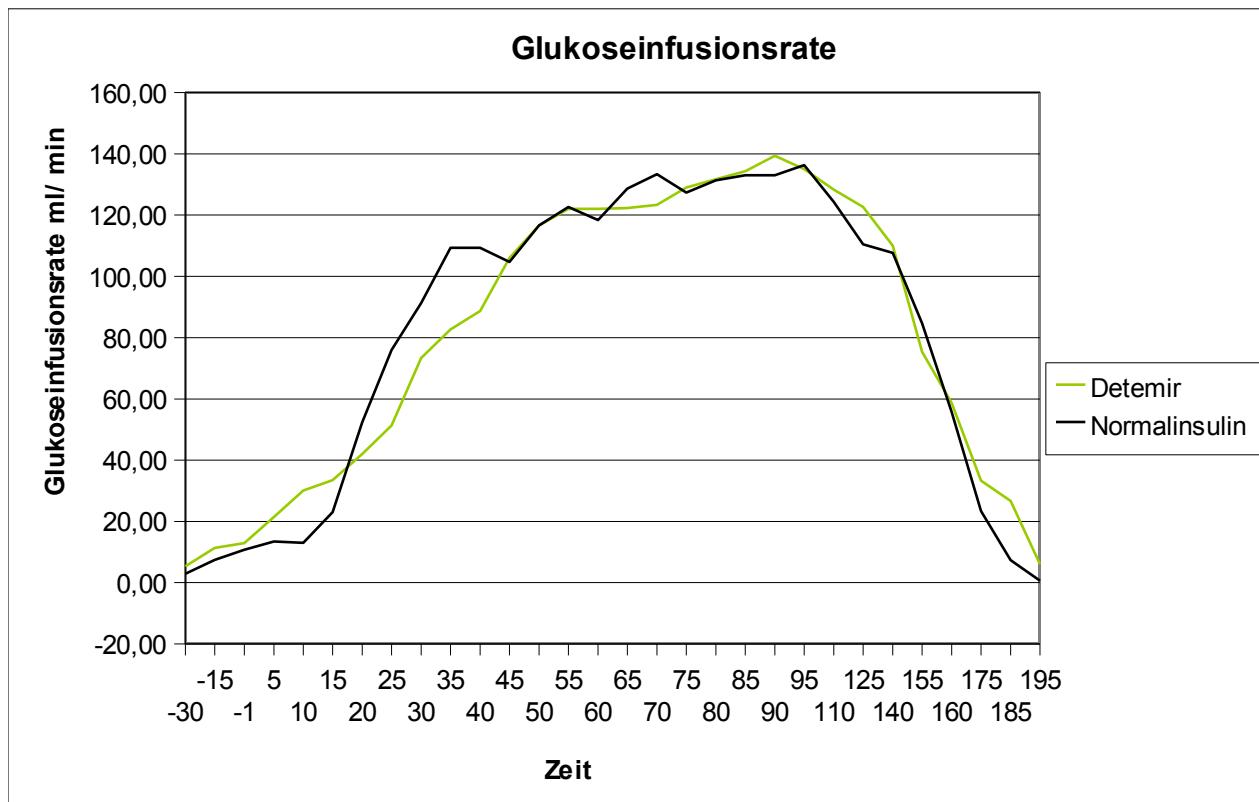


Abbildung 7: Kuvenverlauf der durchschnittlichen Glukoseinfusion während der Insulindauerinfusionsgabe und der neunzigminütigen Aufnahmezeit sowie nach Beendigung der Aufnahme bis zur 195. Minute.

Ergebnisse der DC-Potentiale unter Detemir und Normalinsulin

Negativierung der DC-Potentiale unter Detemir

Eine deutlich negative Verschiebung der DC-Potentiale zeigte sich nach der Verabreichung von Insulin Detemir unter euglykämischen Bedingungen in dem Zeitraum ab der 21. Minute bis zur 90. Minute. Die Negativverschiebung war bis zum Ende der Aufnahmezeit nachweisbar und erreichte gegen Ende Maximalwerte von über $-600 \mu\text{V}$ (siehe Abbildung 8). Durchschnittlich lagen die DC-Potentialverschiebungen unter Detemir bei $-372 \pm 127 \mu\text{V}$. Die Analysen der einzelnen Zeitpunkte ergab, dass die Negativierung bereits in der 14,5. Minute (für Ableiteposition F3) signifikant vom Grundlinienniveau abwich.

Die Analysen der durchschnittlichen DC-Potentiale bestätigten, dass deutlich negativer Potentiale unter Insulin Detemir als unter Alt Insulin erreicht wurden ($P < 0,02$).

In der Normalinsulin-Bedingung trat während der Zeit der Registrierung keine signifikante Verschiebung in negative Richtung auf. Zwar wurde eine Potentialänderung beobachtet, die auch kurz nach Insulingabe registriert wurde, diese wies jedoch keine signifikante Verschiebung zur Grundlinie auf ($P > 0,43$).

DC-Potentiale					
	Normalinsulin (NI) Mittel±SEM	Detemir (Det) Mittel±SEM	Det vs. Grundlinie P-Wert	NI vs. Grundlinie P-Wert	NI vs. Det P-Wert
F3	-7,19±168,77	-470,24±148,92	0,01	0,97	0,06
FC3	211,28±243,76	-343,87±169,76	0,07	0,13	0,13
C3	261,43±161,82	-161,39 ±114,50	0,19	0,14	0,03
F4	-61,82±224,03	-426,24±179,60	0,04	0,79	0,25
FC4	213,07±239,50	-406,36±139,26	0,02	0,39	0,01
C4	-262,01±125,39	-425,0± 202,89	0,06	0,06	0,01

Tabelle 1: Durchschnittliche DC-Potentialniveaus ± SEM in der Aufnahmezeit: 21.- 90. Minute. Übersicht über Signifikanzen für die Unterschiede zwischen der Detemir (Det) vs. Normalinsulin (NI) Bedingung sowie die Unterschiede der jeweiligen Bedingung zum Grundlinienniveau (Detemir vs. Grundlinie beziehungsweise Normalinsulin vs. Grundlinie).

Graphische Darstellung der DC-Potentiale

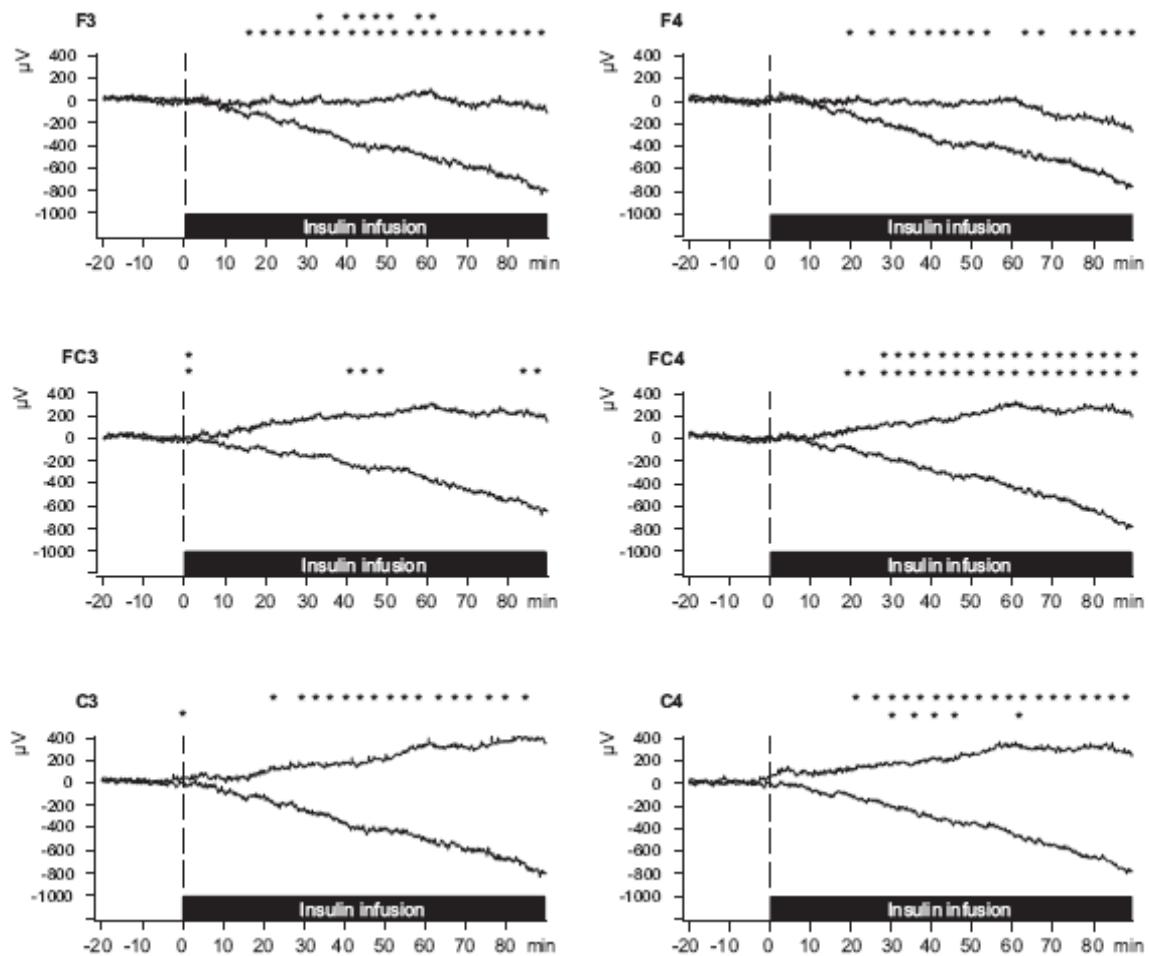


Abbildung 8: Durchschnittliche DC-Potentialniveaus (in μV) über den frontalen (F3, F4), frontozentralen (FC3, FC4) und zentralen (C3, C4) kortikalen Arealen während einer zwanzigminütigen Grundlinienphase und einer neunzigminütigen Aufnahmephase.

Gedächtnistests unter Detemir und Normalinsulin

Deklarative Gedächtnisleistung: Paar-assoziiertes Lernen

Die Durchführung des Paar-assoziierten Lernens zur Testung der deklarativen Gedächtnisleistung ergab vergleichbare Ergebnisse für beide Bedingungen. Die Anzahl der korrekt erinnerten Wortpaare unterschied sich weder während des Lernens (vor Infusionsbeginn) noch während des Abrufs (nach Infusionsende) signifikant zwischen den beiden Bedingungen (Tabelle 2).

Nach Infusionsgabe von Detemir erhöhte sich die Anzahl der korrekt erinnerten Wortpaare um durchschnittlich $0,6 \pm 0,66$. Unter Normalinsulin erhöhte sie sich um durchschnittlich $0,2 \pm 0,84$ Wortpaare, wobei sich dieser Anstieg nicht zwischen den Bedingungen unterschied ($P > 0,72$). Gemessen an der Performanz während des Lerndurchgangs war die Abrufleistung nach Insulininfusion weder in der Detemir- ($P > 0,38$) noch in der Normalinsulinbedingung ($P > 0,82$) signifikant besser.

Signifikante Effekte bezüglich einer Verbesserung der deklarativen Gedächtnisleistung konnten somit weder für Insulin Detemir noch für Normalinsulin gezeigt werden.

	Lernen			Abruf		
	Det	NI	P-Wert	Det	NI	P-Wert
Richtige Wortpaare	$26,93 \pm 0,69$	$25,93 \pm 0,5$	0,17	$27,53 \pm 1,02$	$26,13 \pm 1,07$	0,29

Tabelle 2: Durchschnittswerte \pm SEM der richtig erinnerten Wortpaare unter Detemir (Det) und Normalinsulin (NI) vor der Insulingabe (Lernen) und nach der Gabe (Abruf).

Prozedurale Gedächtnisleistung: Fingertapping

In der Fingertapping Übung, mit der die prozedurale Gedächtnisleistung getestet wurde, erhöhte sich die Anzahl der korrekt getippten Sequenzen nach Insulingabe unter der Detemir-Bedingung um durchschnittlich $2,6 \pm 2,3$ und unter der Normalinsulin Bedingung um $6,2 \pm 2,2$ (siehe Tabelle 3). Für die prozedurale Gedächtnisleistung konnte kein signifikantes Ergebniss unter beiden Bedingungen erzielt werden ($P>0,91$).

	richtige Sequenz beim Lernen	richtige Sequenz bei Abruf	Abruf vs. Lernen (richtige Sequenz) P-Wert	Abruf vs. Lernen (Fehler) P-Wert
Det	$17,67 \pm 1,54$	$19,29 \pm 1,43$	0,08	0,17
NI	$18,04 \pm 1,31$	$19,07 \pm 1,63$	0,18	0,8

Tabelle 3: Darstellung der Durchschnittswerte \pm SEM der richtigen Fingertapping Sequenz unter Detemir (Det) und unter Normalinsulin (NI). Angabe der Abruf - Lernen Vugleiche in der Detemir Bedingung bzw. in der Normalinsulin Bedingung.

Subjektives Empfinden unter Detemir und Normalinsulin

Eigenschaftswörterliste (EWL-K)

In der vorliegenden Studie sollte die momentane Befindlichkeit der Probanden objektiv durch Einordnung von Eigenschaftswörtern aus EWL-K- Listen erfasst werden. Die Adjektive sind in der Auswertung 14 Subskalen untergeordnet, die sowohl positive, als auch negative Befindlichkeiten widerspiegeln.

Dargestellt werden in den Tabellen 4 und 5 die Ergebnisse der ANOVA unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Bedingungen (Detemir vs. Normalinsulin) und der unterschiedlichen Zeitpunkte (Grundlinie/ +95.Minute/ +195.Minute) an denen die Angaben zu den Eigenschaftswörtern von den Probanden durchgeführt wurden.

Das Auswerten der EWL-K-Listen ergab einen signifikanten Unterschied in der Subskala Desaktivität zum Zeitpunkt nach der Insulinapplikation (+95.Minute). Es zeigte sich zu diesem Zeitpunkt eine Abnahme der Desaktivität in der Detemir Bedingung verglichen mit der Normalinsulin Bedingung ($P<0,04$). Dieser Effekt verschwand mit der Frühstückseinnahme (+195.Minute). In den übrigen Subskalenwerte wurden zu den jeweiligen Zeitpunkten keine signifikanten Unterschiede in beiden Bedingungen nachgewiesen.

EWL-K Ergebnisse nach der Insulingabe				
	Detemir	Normalinsulin	Det vs. NI	Grundlinie vs. +95. Minute
	<i>Mittel±SEM</i>	<i>Mittel±SEM</i>	<i>P-Wert</i>	<i>P-Wert</i>
Aktivität	0,34±0,08	0,44±0,09	0,1	0,21
Desaktivität	0,21±0,07	0,17±0,05	0,51	0,04
Müdigkeit	0,20±0,07	0,14±0,04	0,24	0,14
Benommenheit	0,20±0,08	0,14±0,05	0,21	0,22
Extrovertiert	0,58±0,07	0,57±0,07	0,92	0,11
Introvertiert	0,09±0,04	0,05±0,02	0,32	0,93
Selbstbewußt	0,05±0,09	0,61±0,08	0,38	0,2
Stimmung	0,56±0,08	0,55±0,08	0,81	0,16
Erregung	0,09±0,05	0,05±0,03	0,16	0,14
Empfindlich	0,16±0,08	0,05±0,03	0,08	0,12
Ärgerlich	0,04±0,04	0,06±0,04	0,67	0,91
Ängstlich	0,03±0,03	0,04±0,03	0,71	0,93
Deprimiert	0,04±0,03	0,02±0,01	0,46	0,26
Verträumt	0,16±0,05	0,17±0,05	0,87	0,25

Tabelle 4: Durchschnittswerte ± SEM der Subskalenwerte nach Insulinapplikation (+95. Minute) unter Detemir (Det) und Normalinsulin (NI) verglichen mit den Subskalenwerten vor Insulinapplikation.

EWL-K Ergebnisse nach dem Frühstücksverzehr				
	Detemir	Normalinsulin	Det vs. NI	Grundlinie vs. +195. Minute
	<i>Mittel±SEM</i>	<i>Mittel±SEM</i>	<i>P-Wert</i>	<i>P-Wert</i>
Aktivität	0,47±0,09	0,48±0,08	0,91	0,66
Desaktivität	0,07±0,04	0,11±0,06	0,52	0,6
Müdigkeit	0,05±0,03	0,07±0,05	0,72	0,67
Benommenheit	0,03±0,02	0,05±0,05	0,65	0,98
Extrovertiert	0,64±0,07	0,62±0,07	0,83	0,17
Introvertiert	0,03±0,02	0,06±0,04	0,59	0,55
Selbstbewußt	0,65±0,09	0,60±0,08	0,56	1
Stimmung	0,05±0,02	0,64±0,09	0,57	0,45
Erregung	0,05±0,02	0,10±0,05	0,16	0,99
Empfindlich	0,02±0,02	0,09±0,07	0,34	0,61
Ärgerlich	0,00±0,00	0,01±0,01	0,33	0,72
Ängstlich	0,00±0,00	0,04±0,03	0,22	0,61
Deprimiert	0,01±0,01	0,02±0,02	0,52	0,59
Verträumt	0,16±0,07	0,08±0,03	0,4	0,22

Tabelle 5: Durchschnittswerte ± SEM der Subskalenwerte nach dem Frühstücksverzehr (+195. Minute) unter Detemir (Det) und Normalinsulin (NI) verglichen mit den Subskalenwerten vor der Insulinapplikation.

Bipolarskala

Die folgenden Abbildungen 9-11 stellen ausschließlich die signifikanten Unterschiede der Bipolarskala dar. Berücksichtigt wurden bei der Auswertung der Ergebnisse die unterschiedlichen Bedingungen (Detemir vs. Normalinsulin) sowie die Zeiten (Grundlinie, +95.Minute,+195.Minute) an denen es galt die Angaben zu den Gegensatzpaaren durchzuführen.

Betrachtet man die Ergebnisse in der Dimension kritisch-anangepasst wird deutlich, dass die Probanden sich nach Detemirgabe (Zeitpunkt: +95.Minute) kritischer fühlten ($2,87 \pm 0,1$ vs. $3,27 \pm 0,18$, $P < 0,009$; $P = 0,03$ für Bedingung x Zeit).

Nach dem Frühstücksverzehr (+195.Minute) war dieser Effekt in der Dimension kritisch-anangepasst nicht nachweisbar (siehe Abbildung 9).

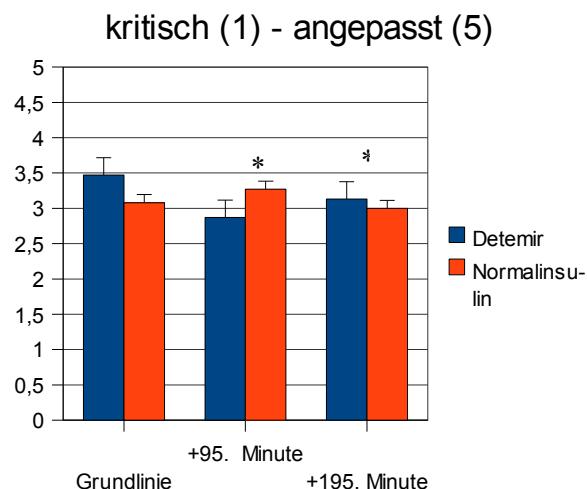


Abbildung 9: Graphische Darstellung der Durchschnittswerte \pm SEM der Bipolarskala für die Dimension kritisch- angepasst. Angaben zu den Zeitpunkten vor der Insulininfusion (Grundlinie), nach der Insulininfusion (+95.Minute) sowie nach dem Frühstücksverzehr (+195.Minute).
(*) $P < 0,05$.

Die Dimension satt-hungrig wies eine Signifikanz zu vermehrtem Hunger nach Detemirgabe in der 95.Minute auf ($4,20 \pm 0,20$ vs. $3,53 \pm 0,22$, $P < 0,01$; $F(2,24) = 4,85, P = 0,02$), dieser Effekt verschwand mit der Frühstückseinnahme (+195.Minute, siehe Abbildung 10).

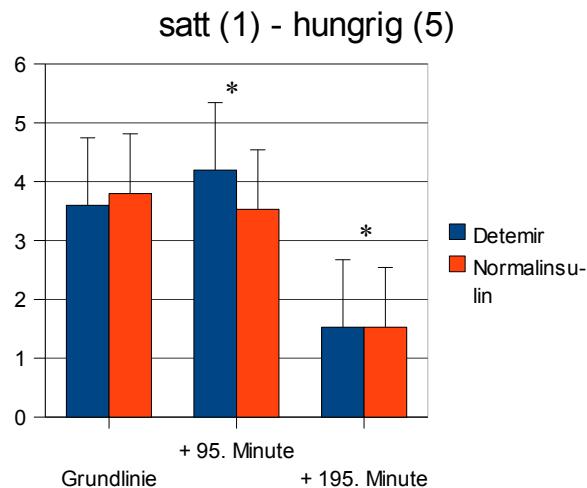


Abbildung 10: Graphische Darstellung der Durchschnittswerte \pm SEM der Bipolarskala für die Dimension satt - hungrig. Angaben zu den Zeitpunkten vor der Insulininfusion (Grundlinie), nach der Insulininfusion (+95.) sowie nach dem Frühstücksverzehr (+195.Minute). (*) $P < 0,05$.

Vor der Frühstückseinnahme und nach Detemirgabe fühlten sich die Probanden tendenziell konzentrierter verglichen mit der Normalinsulingabe ($3,33 \pm 0,23$ vs. $2,73 \pm 0,23, P = 0,02$). Nach dem Frühstücksverzehr ließ sich jedoch kein signifikanter Effekt nachweisen.

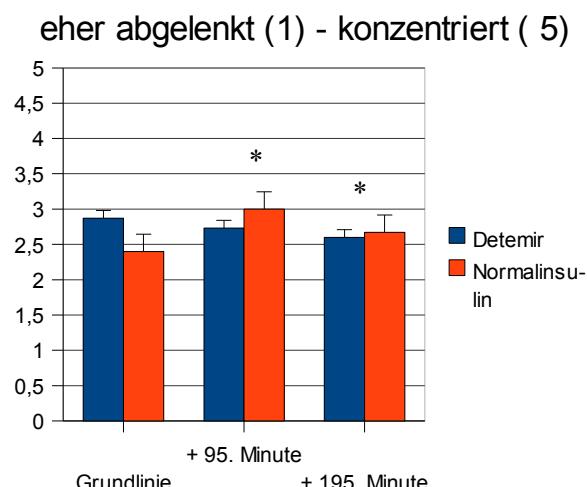


Abbildung 11: Graphische Darstellung der Durchschnittswerte \pm SEM der Bipolarskala für die Dimension eher abgelenkt-konzentriert Angaben zu den Zeitpunkten vor der Insulininfusion (Grundlinie), nach der Insulininfusion (+95.) sowie nach dem Frühstücksverzehr (+195.Minute).
(*) $P < 0,05$.

Insgesamt machen die Ergebnisse der Bipolarskala deutlich, dass die Probanden sich nach Detemir verglichen mit Normalinsulin kritischer und konzentrierter fühlten sowie eine Tendenz zu vermehrtem Hunger aufwiesen. Die übrigen Dimensionen wiesen nach der Insulininfusion und in der Zeit nach der Frühstückseinnahme keine signifikanten Effekte auf.

Ratings

Das subjektive Empfinden der Probanden für die drei Parameter Hunger, Durst und Müdigkeit ergab folgende Ergebnisse für die Insulin Detemir-Bedingung: Hunger war unter dieser Bedingungen leicht verstärkt ($5,87 \pm 0,62$ vs. $4,67 \pm 0,55$, $P < 0,07$). Dieser Effekt verschwand mit der Gabe des Frühstücks. Für die Parameter Durst und Müdigkeit wurden keine signifikanten Effekte weder unter Detemir noch unter Normalinsulin beobachtet.

Hunger

Die Probanden gaben ihren Hunger vor Beginn der Aufzeichnung mit einem durchschnittlichen Wert von $4,87 \pm 0,68$ unter Detemir und mit $3,80 \pm 0,47$ unter Normalinsulin an. Erhielten die Probanden Detemir so änderte sich der durchschnittliche Wert auf $5,87 \pm 0,62$ nach Insulinapplikation und unter Normalinsulin auf $4,67 \pm 0,55$ nach ($P > 0,91$). Nach dem Frühstück wurde der Hunger unter Detemir mit $1,47 \pm 0,43$ und unter Normalinsulin mit $1,73 \pm 0,34$ angegeben ($P > 0,33$).



Abbildung 12: Durchschnittswerte \pm SEM der Einschätzung von Hunger vor der Insulingabe (Grundlinie), nach Insulingabe (+95. Minute) und nach dem Frühstücksverzehr (+195. Minute).

Der subjektiv eingeschätzte Hunger erschien leicht verstärkt unter Insulin Detemir, unterschied sich jedoch nicht signifikant nach der Insulinapplikation(+95. Minute) mit

$P<0,07$ zwischen beiden Bedingungen. Der Vergleich beider Bedingungen nach dem Frühstücksverzehr wies ebenfalls keinen signifikanten Effekt auf.

Durst

Die Probanden gaben ihren Durst vor Beginn der Aufzeichnung mit einem durchschnittlichen Wert von $4,73\pm0,56$ unter Detemir und mit $5,93\pm0,54$ unter Normalinsulin an. Erhielten die Probanden Detemir so änderte sich der durchschnittliche Wert auf $5,73\pm0,54$ nach der Insulindauerinfusion und unter Normalinsulin blieb der Wert konstant bei $5,93\pm0,54$ ($P>0,12$). Nach dem Frühstück wurde der Durst unter Detemir mit $1,47\pm0,39$ und unter Normalinsulin mit $1,00\pm0,24$ eingeschätzt ($P>0,74$).

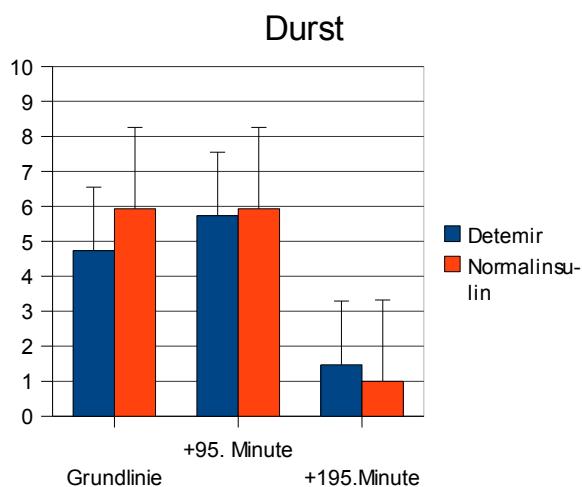


Abbildung 13: Durchschnittswerte \pm SEM der Einschätzung von Durst vor der Insulingabe (Grundlinie), nach Insulingabe (+95. Minute) und nach dem Frühstücksverzehr (+195. Minute).

Die subjektive Einschätzung für den Durst zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Bedingungen oder zwischen den unterschiedlichen Zeitpunkten auf.

Müdigkeit

Die Probanden gaben ihre Müdigkeit vor Beginn der Aufzeichnung mit einem durchschnittlichen Wert von $4,87 \pm 0,53$ unter Detemir und mit $4,60 \pm 0,56$ unter Normalinsulin an. Erhielten die Probanden Detemir so änderte sich der durchschnittliche Wert auf $5,07 \pm 0,56$ nach Insulinerhalt und unter Normalinsulin änderte er sich auf $5,13 \pm 0,66$ ($P > 0,87$). Nach dem Frühstück wurde die Müdigkeit unter Detemir mit $3,13 \pm 0,46$ und unter Normalinsulin mit $2,33 \pm 0,54$ angegeben ($P > 0,33$), dieses gibt die Abbildung 14 wieder.

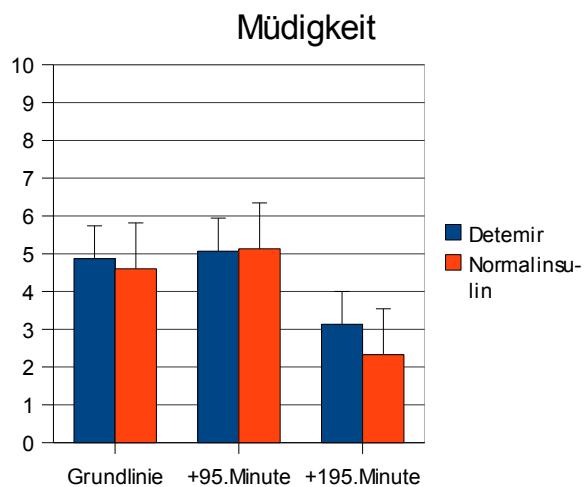


Abbildung 14: Durchschnittswerte (\pm SEM) der Einschätzung von Müdigkeit vor der Insulingabe (Grundlinie), nach der Insulingabe (+95. Minute) und nach dem Frühstücksverzehr (+195. Minute).

Die subjektiv eingeschätzte Müdigkeit unterschied sich nicht signifikant zwischen den beiden Bedingungen ebenso wenig zwischen den unterschiedlichen Zeitpunkten.

4. Diskussion

Veränderungen der kortikalen Erregbarkeit können anhand von DC-Potentialen registriert werden. Sie sind als ein Maß der kortikalen Erregbarkeit anzusehen (Rockstroh et al., 1989).

Starke Negativierung unter Insulin Detemir

Anhand unserer Ergebnisse wird deutlich, dass unter Insulin Detemir Prozesse im zentralnervösen Bereich unmittelbar beeinflusst werden. Dieses konnte nachgewiesen werden anhand der rasch einsetzenden Potentialverschiebungen vom Grundlinienniveau in den negativen Bereich. Die Detemir-Bedingung zeigt den starken Insulineinfluss auf DC-Potentiale und festigt dadurch die Annahme von Unger et al., 1991; und Schwartz et al., 1992, welche das Gehirn als ein Hauptziel für zirkulierendes Insulin sehen.

Unsere statistische Auswertung der DC-Potentiale spiegelt den Zeitverlauf der Insulin-Wirkungen wieder. Man konnte bereits einundzwanzig Minuten nach Insulin Detemir-Gabe eine signifikante negative Verschiebung der DC-Potentiale registrieren. Die signifikante Negativierung der durchschnittlichen DC-Potentiale im Vergleich zur Grundlinie war bis zum Ende der Aufnahmezeit nachweisbar. Auch unter Normalinsulin kam es zu DC-Potentialverschiebungen, jedoch zeigten sich keine signifikanten Potentialänderungen wie in Vorgängerstudien mit Normalinsulin. Dieser Effekt könnte zum einen darauf beruhen, dass Normalinsulin in unserer Studie in einer anders gewählten Dosierung injiziert wurde. Der Insulinbolus wurde für Normalinsulin mit 17,75 mU/kg/KG bestimmt; in der vorherigen Studie galt eine Bolusgabe von 0,1 U/kg/KG. Zum anderen unterscheidet sich unser Versuchsaufbau, da wir neben der Bolusgabe ergänzend eine Insulin Dauerinfusionsgabe applizierten.

Verändertes Wirkprinzip beeinflusst den starken Effekt

Die Tatsache, dass die DC-Potentialverschiebungen unter Insulin Detemir innerhalb weniger Minuten nach intravenöser Applikation auftraten, impliziert eine sehr schnelle Insulin Aufnahme ins Gehirn. Diese Beobachtung unterstützt die Annahme von Schwartz et al., die die Blut-Hirn-Schranke als den Hauptweg zirkulierenden Insulins ins Gehirn und in den Liquor ansehen und nicht den langsameren Zugang über die Blut-Liquor-Schranke (Schwartz et al., 1991).

Unsere Untersuchungen stützen desweiteren Ergebnisse aus der 2006 veröffentlichten Studie „tissue selective action with a relative reference for brain“ von Hennige et al., dass Insulin Detemir eine gehirnspezifische Wirkung zeigt und diese insbesondere durch seine Lipophilie und die dadurch ermöglichte reversible Bindung an Albumin hervorgerufen wird. Wir schliessen daraus, dass unsere Beobachtungen für die Detemir-Bedingung sich u.a. auf das veränderte Wirkprinzip zurückführen lassen.

Die starke negative Verschiebung der DC-Potentiale unter Insulin Detemir könnte von massiven Veränderungen in den extrazellulären Ionenkonzentrationen hervorgehen, wenn man davon ausgeht, dass die Potentialänderungen in erster Linie einen zentralnervösen Ursprung haben. Für die neuronale Aktivität kommen am ehesten Gliazellen in Betracht, da nachgewiesen wurde, dass ihre Membranen Rezeptoren für Insulin und Insulin-like-growth-factor aufweisen und Insulin die Glukoseaufnahme in die Gliazellen stimuliert (Kum et al., 1992; Hamai et al., 1999). Weiterhin spricht für einen glialen Ursprung, dass Gliazellen über ihre weit verzweigten Zwischenverbindungen einen Ionenpuffer sowohl für Kalium als auch für Kalzium bilden und somit negative kortikale DC-Potentialverschiebungen erzeugen können (Kuffler & Nicholls, 1966; Heinemann et al., 1979; Laming et al., 2000; Fields & Stevens-Graham, 2002).

Störeinflüsse bei der DC-Potentialregistrierung

Da die Registrierung von DC-Potentialen sehr störanfällig ist und das auch in den Ergebnissen unserer Studie berücksichtigt wurde, wird auf weitere mögliche Einflüsse bzw. Störungsquellen eingegangen.

Während der Registrierung von DC-Potentialen gilt es mögliche verzerrende Einflüsse weitgehend zu minimieren, um eine möglichst artefaktfreie Aufzeichnung zu erhalten. Artefaktbelastungen resultieren aus elektrodermalen Störungsquellen, okulären Einflüssen, der Muskelspannung und aus der Bewegung geladener oder polarisierter Körperteile (Rockstroh et al., 1989). Da die Kopfhaut einen sehr hohen Widerstand aufweist wurde sie bei den Probanden vor Anbringen der Elektroden gereinigt und punktiert. Durch dieses standardisierte Verfahren wird der Hautwiderstand so weit wie möglich herabgesetzt und die zusätzlich von der Haut ausgehenden generierten Potentiale eliminiert (Picton & Hillyard, 1972).

Da es galt, Muskelaktivität als mögliche „Störungsquelle“ zu identifizieren und zu minimieren, wurden EMG-Elektroden angebracht. Muskelaktivität geht nachweisbar mit langsamem Potentialverschiebungen einher, die zu Störungen bei der DC-Aufzeichnung führen (Rockstroh & McCallum, 1993). Die Probanden wurden daher gebeten, die Gesichtsmuskulatur möglichst entspannt zu halten. Entstanden Potentialverschiebungen, die sich in den EMG-Aufzeichnungen zeigten, und als Muskelaktivitäten identifiziert wurden, flossen diese nicht in die Bewertung ein.

Um störende Einflüsse, die aus Körperbewegungen resultieren, zu minimieren, wurden die Probanden aufgefordert, in ihrem Untersuchungsbett möglichst still zu sitzen. Dies wurde aus dem Nachbarraum optisch überprüft; gegebenenfalls wurden entsprechende Hinweise über Lautsprecher gegeben. Die Anbringung des horizontalen und vertikalen Elektrookulogramms (HEOG, VEOG) erfolgte an den äußeren Augenrändern, um Artefakteinflüsse, die aus Augenbewegungen hervorgehen, während der Aufnahme zu

kontrollieren. Desweiteren wurde darauf geachtet, dass der Proband seine Augen geöffnet hält und möglichst einen bestimmten Punkt an der Wand fixiert. Ein Schließen der Augen wäre durch große Ausschläge im Elektrookulogramm sichtbar geworden (Waszak & Obrist, 1969), was zum Ausschluss aus der Bewertung geführt hätte.

Vergleich der Insulindosierungen

Da die DC-Potentialnegativierungen nur während der Insulin Detemir aufgetreten sind, kann man davon ausgehen, dass die gewählte Höhe der Bolus-und Dauerinfusionsrate für Insulin Detemir einen Auslöser für die DC-Potentialverschiebungen darstellt. Auch bei Experimenten von Kern et al., 2001 zeigte sich unter der einen deutlich höher gewählten Insulin Dosierung ein stärkerer Effekt gegenüber der niedrigeren Insulinbedingung (Kern et al., 2001). Jedoch wurde in unserem Versuch eine höhere Insulin Detemir Dosierung gewählt, um vergleichbare Insulineffekte zu erzielen. Es galt die verzögert einsetzende Wirkung des langwirkenden Insulin Analogons gegenüber Normalinsulin durch eine verdoppelte Dauerinfusionsrate von 2,0 mU/kg/min für Insulin Detemir auszugleichen. Zusätzlich wurde darauf geachtet auch die Bolusgabe dem Verzögerungsmechanismus durch entsprechend höhere Dosierung (90 mU/kg Insulin Detemir versus 17,75 mU/kg Normalinsulin) anzupassen. Um Absorptions-Unregelmäßigkeiten aus dem subkutanen Injektionsort im Vergleich Normalinsulin versus Insulin Detemir zu vermeiden, wurde die intravenöse Verabreichung gewählt. Bei Insulin Detemir liegt bekanntlich die Löslichkeit im ph-neutralen Bereich, so dass sich am Injektionsort ein subkutanes Depot bildet. Die bereits erwähnte starke Selbstassoziation der Insulin Detemir-Moleküle auf der einen Seite und die Bindung an Albumin auf der anderen Seite bewirken die verzögerte Freisetzung und seine längere Wirkdauer. Dieses Prinzip bildete die Voraussetzung für die intravenöse Verabreichung beider Insuline, um die Bedingungen vergleichbar zu halten. Obwohl eine doch deutlich höhere Insulin Detemir-Dosierung gewählt wurde, um die oben genannten Effekte zu vermeiden, konnte anhand der Auswertung der Blut-Glukose-Bestimmungen keine vermehrte Stimulation des peripheren Glukose-Metabolismus nachgewiesen werden. Für beide Bedingungen wurde erreicht, dass die Blut-Glukose-Konzentrationen sowohl während der Grundlinienphase als auch während der gesamten Aufnahmezeit auf vergleichbarem Niveau gehalten wurden.

Einfluss der Insulininfusionsdauer auf die Gedächtnisleistungsfähigkeit

Kern et al. konnten in ihrer Studie 2001 durch Hyperinsulinämie eine Verbesserung der Aufmerksamkeit und der Gedächtnisleistung insbesondere des Kurzzeitgedächtnisses im Vergleich einer hohen mit einer niedrigen Insulindosierung herbeiführen (Kern et al., 2001). In ihrem Versuch wählten sie eine deutlich längere Insulininfusionsdauer von 360 Minuten und verwendeten Gedächtnistests, die vor allem die akute Merkfähigkeit erfassen. Wir

wählten für unsere Studie zum einen eine deutlich kürzere Infusionsdauer von neunzig Minuten, um die methodisch aufwändige DC-Potential-Ableitung in einem überschaubaren zeitlichen Rahmen zu halten. Zum anderen wählten wir eine unterschiedliche Herangehensweise der Gedächtnistestung, d.h. eine Lernphase vor Insulingabe gekoppelt mit einem Abruf danach, um Effekte der Insulingabe auf ein Gedächtniskonsolidierungsintervall zu erheben. Dabei zeigte sich, dass Detemir im Vergleich zu Humaninsulin die Gedächtniskonsolidierung nicht verbesserte. Dies könnte bedeuten, dass der sich in der DC-Potential-Verschiebung widerspiegelnde zentralnervöse Effekt von Detemir im Vergleich zu Humaninsulin die kognitive Verarbeitung von Gedächtnisinhalten nicht betrifft. Andererseits könnte die Infusionsdauer oder aber die Dauer des Konsolidierungsintervalls zu gering gewesen sein, um entsprechende Detemireffekte zu erfassen. Die Effekte von Detemir im Vergleich zu Humaninsulin auf neuropsychologische Funktionen sollten deshalb Gegenstand weiterer Studien sein.

Überlegungen zum Einfluss des subjektiven Empfindens

Eine mögliche Korrelation von Einflüssen des subjektiven Empfindens der Probanden und deren Auswirkungen auf eine insulininduzierte Negativierung der DC-Potentiale muss in Betracht bezogen werden, da sich in Vorgängerstudien zeigte, dass das subjektive Empfinden von Hunger, Durst und Müdigkeit einen signifikanten Einfluss auf die kortikale Erregbarkeit hat. Negativierungen von DC-Potentialen wurden in diesem Zusammenhang insbesondere bei dem Verzehr von Nahrung beobachtet (Schmitt et al., 2001). In diesem Zusammenhang erscheint es ebenfalls wichtig, dass euglykämische Insulingaben einen Einfluss auf den selbsteingeschätzten Hunger beim Menschen hat. Das zeigte sich indem das subjektiv empfundene Hungergefühl über mehrere Stunden, abhängig von der gewählten Insulindosierung, vermindert werden konnte (Kern et al., 2001). Unsere Ergebnisse hingegen wiesen jedoch eine Zunahme des Hungers nach Detemirgabe verglichen mit der Normalinsulingabe auf. Eine Verminderung des Hungergefühls konnte somit nicht nachgewiesen werden.

Ausblick

In Hinblick auf die Ergebnisse der DC-Potentialregistrierung unter Insulin Detemir verdeutlicht es dessen Einfluss auf zentraler Ebene, insbesondere die signifikante und lang anhaltende Negativierung der DC-Potentiale. In unserer Studie zeigte sich hinsichtlich kognitiver Leistungen keine eindeutige Verbesserung. Dennoch sollten weitere Forschungen hinsichtlich eines Einflusses der Insuline, wie bereits untersucht für zentrale demenzielle Erkrankungen, wie z. B. Morbus Alzheimer , erwogen werden, um die modulierende Wirkung der Insuline auf die Gleichspannungspotentiale aufzugreifen.

5. Literaturverzeichnis

Abbott, M.-A., Wells, D. G., Fallon, J. R.: The insulin receptor tyrosine kinase substrate p58/53 and the insulin receptor are components of CNS synapses. 1999. *Neurosci.* 19: 7300 – 7308.

Aggleton, J. P., Brown, M. W.: Episodic memory, amnesia, and the hippocampal-anterior thalamic axis. 1999. *Behavioral and Brain Sciences.* 22, 425 – 489.

Amzica, F., Massimini, M., Manfridi, A.: Spatial buffering during slow and paroxysmal sleep oscillations in cortical networks of glial cells in vivo. 2002. *J Neurosci* 22, 1042 – 1053.

Banks, W. A., Jaspan, J. B., Huang, W., Kastin, A. J.: Transport of insulin across the blood-brain barrier saturability at euglycemic dose of insulin. 1997. *Peptides* 18 (9), 1423 – 1429.

Barlocco, Daniela: Insulin detemir Novo Nordisk. *Current Opinion in investigational Drugs.* 2003. 4, (4): 449 – 454.

Baskin, D. G., Woods, S. C., West, D. B., van Houten, M., Posner, B. I., Dorsa, D. M., Porte, D. Jr.: Immunocytochemical detection of insulin in rat hypothalamus and its possible uptake from cerebrospinal fluid. 1983. *Endocrinology* 113, 1818 – 1825.

Baskin, D. G., Figlewicz, D. P., Woods, S. C., Porte, D. Jr., Dorsa, D. M.: Insulin in the brain. 1987. *Annu Rev Psychol.* 49: 334 – 347.

Baura, G. D., Foster, D. M., Porte, D. Jr., Kahn, S. E., Bergman, R. N., Cobelli, C., Schwartz, M. W.: Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. 1993. *J. Clin. Invest.* 92 (4), 1824- 1830.

Benedict, C., Hallschmid, M., Hatke, A., Schultes, B., Fehm, H. L., Born, J., Kern, W.: Intranasal insulin improves memory in humans. 2004. *Psychoneuroendocrinology.* 29, 1326 -1334.

Birbaumer, N.: Selbstregulation langsamer Hirnpotentiale. 1998. *Neuroforum.* 2, 190 – 203.

Birbaumer, N., Schmidt, R. F.: Biologische Psychologie. 2003. 5. Aufl. Berlin.

Birbaumer, N., Elbert, T., Canavan, A. G., Rockstroh, B.: Slow potentials of the cerebral cortex and behavior. 1990. *Physiol Rev* 70, 1 – 41.

Böcker, W., Denk, H., Heitz, Ph. U. (Hrsg.): Pathologie. 2004, 3. Auflage.

Boyd, F. T., Raizada, M. K.: Effects of insulin and tunicamycin on neuronal insulin receptors in culture. 1983. Am. J. Physiol. 245, C283 – 287.

Boyd, F. T., Clarke, D. W., Muther, T. F., Raizada, M. K.: Insulin receptors and insulin modulation of norepinephrine uptake in neuronal cultures from rat brain. 1985. J. Biol. Chem. 260: 15880 – 15884.

Boyt, A. A., Taddei, T. K., Hallmayer, J., Helmerhorst, E., Gandy, S. E., Craft, S., Martins, R. N.: The effect of insulin and glucose on the plasma concentration of Alzheimer's amyloid precursor protein. 2000. Neuroscience. 95: 727 – 734.

Braitenberg, V. & Schüz, A.: Anatomy of the cortex. 1991. Berlin, Heidelberg.

Caspers, H.: Über die Beziehungen zwischen Dendritenpotential und Gleichspannung an der Hirnrinde. 1959. Pflügers Arch. Ges. Physiol. 269: 157 – 181.

Chapman, Therese M., Perry, Caroline M.: Insulin Detemir. A Review of its Use in the Management of Type 1 and 2 Diabetes Mellitus. Drugs 2004; 64 (22): 2577 – 2595.

Christie, J. M., Wenthold R. J., Monaghan, D. T.: Insulin causes a transient tyrosine phosphorylation of NR2A and NR2B NMDA receptor subunits in rat hippocampus. 1999. J. Neurochem. 72: 1523 – 1528.

Clarke, D. W., Boyd, F. T., Kappy, M. S., Raizada, M. K.: Insulin binds to specific receptors and stimulates 2-deoxy-D-glucose uptake in cultured glial cells from rat brain. 1984. J. Biol. Chem. 259, 11672 – 11675.

Cohen, N.J., Poldrack, R.A. & Eichenbaum, H. 1997. Memory for items and memory for relations in the procedural/declarative memory framework. Memory., 5, 131-178.

Craft, S., Peskind, E., Schwartz, M.W., Schellenberg, G.D., Rashkind, M., Porte, D., Jr., 1998. Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease. Neurology, 50: 164-168.

Craft, S., Asthana, S., Schellenberg, G., Baker, L., Cherrier, M., Boyt, A. A., Martins, R. N., Rashkind, M., Peskind, E., Plymate, S.: Insulin effects on glucose metabolism, memory, and plasma amyloid precursor protein in Alzheimer's disease differ according to apolipoprotein-E genotype. 2000. Ann NY Acad Sci 903: 222 – 228.

Eichenbaum, H.: The hippocampus and declarative memory: cognitive mechanisms and neural codes. Behavioural brain research, 2001: 127 (1-2): 199-207.

Fields, R. D., Stevens-Graham, B.: New insights into neuron-glia communication. 202. Science, 298, 556 – 562.

Gallwitz, B.: Neue Studien zu Insulindetemir (Levemir®). Diabetes Congress Report 6/2004. 49 - 51.

Gardner-Medwin, A. R.: Analysis of potassium dynamics in mammalian brain tissue. 1983. J. Physiol., 335: 393 – 426.

Gasparini, L., Gouras, G. K., Wang, R., Gross, R. S., Beal, M. F., Greengard, P., Xu, H.: Stimulation of beta-amyloid precursor protein trafficking by insulin reduces intraneuronal beta-amyloid and requires mitogen-activated protein kinase signaling. 2001. J Neurosci 21: 2561 – 2570.

Girton, D. G., Kamiya, J.: A very stable electrode system for recording human scalp potentials with direct-coupled amplifiers. 1974. Electroencephalography Clin. Neurophysiol 37, 85 – 88.

Guthrie, D., Buchwald, J. S.: Significance testing of difference potentials. 1991. Psychophysiology. 28: 240 – 244.

Hallschmid, M., Schultes, B., Marshall, L., Mölle, M., Kern, W., Bredthauer, J., Fehm, H. L., Born, J: Transcortical direct current potential shift reflects immediate signaling of systemic insulin to the human brain. 2004. Diabetes, Vol. 53, S. 2202 - 2208.

Hamai, M., Minokoshi, Y., Shimazu, T.: L-Glutamate and insulin enhance glycogen synthesis in cultured astrocytes from the rat brain through different intracellular mechanisms. 1999. J Neurochem 73, 400 – 407.

Havrankova, J., Schmeichel, D., Roth, J. & Brownstein, M.: Identification of insulin in rat brain. 1978. PNAS and Nature: Vol. 75, 11, 5737-5741.

Heidenreich, K. A., Zahniser, N. R., Berhanu, P., Brandenburg, D., Olefsky, J. M.: Structural differences between insulin receptors in the brain and peripheral target tissues. 1983. J. Biol. Chem. 258, 8527 – 8530.

Heinemann, U., Lux, H. D., Marciani, M. G., Hofmeier, G.: Slow potentials in relation to changes in extracellular potassium activity in the cortex of cats. In: Speckmann, E. J./Caspers, H.: Origin of cerebral field potentials. 1979. Georg Thieme Publishers, Stuttgart, 33 – 43.

Hennige, A. M., Sartorius, T., Tschritter, O., Preissl, H., Fritzsche, A., Ruth, P., Häring, H.-U.: Tissue selectivity of insulin detemir action in vivo. Diabetologica 2006. 49: 1274 - 1282.

Hill, J. D. N., Parr, G.: Electroencephalography. 1963. London. Walter, W. G.: Technique-interpretation, 65 – 98.

Hong, M., Lee, V. M. Y.: Insulin and insulin-like growth factor-1 regulate tau phosphorylation in cultured human neurons. 1997. J Biol Chem 272: 19547.

Izumi, Y., Pinard, E., Roussel, S., Seylaz, J.: Insulin protects brain tissue against focal ischemia in rats. 1992. Neurosci Lett. 144, 121 – 123.

Janke, W., Debus, G.: Die Eigenschaftswörterliste (EWL) 1978. Hogrefe, Göttingen.

Johanson, C. E., Murphy, V. A.: Acetazolamide and insulin alter choroid plexus epithelial cell (Na), pH and volume. 1990. Am J Physiol. 258: F 1538 – F 1546.

Jonas, E. A., Knox, R. J., Smith, T. C., Wayne, N. L., Connor, J. A., Kaczmarek, C. K.: Regulation by insulin of a unique neuronal Ca⁺⁺ pool and of neuropeptide secretion. 1997. Nature. 385: 343 – 346.

Kern, W., Peters, A., Fruehwald-Schultes, B., Deininger, E., Born, J., Fehm, H. L.: Improving Influence of Insulin on Cognitive Functions in Humans. 2001. Neuroendocrinology. 74. 270 – 280.

Kluwe, Rainer H., Lüer, Gerd, Rösler, Frank: Principles of Learning and Memory. 2003. Basel, Boston, Berlin.

Konrad, Daniel, Steigert, Michael, Schoenle, Eugen J.: Lantus® und Levemir® – zwei neue, lang wirksame Insulinanaloga. 2004. Paediatricia, Vol. 15, No. 4.

Kuffler, S. W., Nicholls, J.G.: The physiology of neuroglial cells. Ergeb Physiol 57, 1 – 90, 1966.

Kum W., Zhu, S. Q., Ho, S. K., Young, J. D., Cockram, C. S.: Effect of insulin on glucose and glycogen metabolism and leucine incorporation into protein in cultured mouse astrocytes. 1992. Glia 6, 264 – 8.

Kurtzhals, P.: Engineering predictability and protraction in a basal insulin analogue: the pharmacology of insulin detemir. 2004. International Journal of Obesity. 28, Suppl. 2, 23 – 28.

Laming, P. R., Kimelberg, H., Robinson, S., Salm, A., Hawrylak, N., Muller, C., Roots, B., Ng, K: Neuronalglial interactions and behaviour. Neurosci Biobehav Rev 24, 295 - 340, 2000.

Lesort, M., Jope, R. S., Johnson, G. V.: Insulin transiently increases tau phosphorylation: Involvement of glycogen synthase kinase-3beta and Fyn tyrosine kinase. 1999. J Neurochem 72: 576 – 584.

Lesort, M., Johnson, G. V.: Insulin-like growth factor-1 and insulin mediate transient site-selective increases in tau phosphorylation in primary cortical neurons. 2000. *Neuroscience* 99: 305 – 316.

Lin, J. W., Ju, W., Foster, K., Lee, S. H., Ahmadian, G., Wyszynski, M., Wang, Y. T., Sheng, M.: Distinct molecular mechanisms and divergent endocytic pathways of AMPA receptor internalization. 2000. *Nat. Neurosci.* 12: 1282 – 1290.

Löffler, Georg, Petrides, Petro E.: Biochemie und Pathobiochemie. 1998. 6. Auflage. Berlin, Heidelberg, New York.

Lowe, W. L., Boyd, F. T., Clarke, D. W., Raizada, M. K., Hart, C., LeRoith, D.: Development of brain insulin receptors: Structure and functional studies of insulin receptors from whole brain and primary cell culture. 1986. *Endocrinology*. 119, 25 – 35.

Lutzenberger, W., Elbert, T., Rockstroh, B., Birbaumer, N.: Das EEG. 1985. Berlin.

Markowitsch, H. J.: Memory and amnesia. In: M.-M. Mesulam (Ed.), *Principles of behavioral and cognitive neurology*. 2000 (2nd ed. pp. 257 - 293) Oxford.

McCallum, W. C., Curry, S. H. (Eds.): Slow potential changes in the Human Brain. Plenum Press. New York. 1993. Curry, S. H.: An examination of the relationship between CNV amplitude and the preceding steady potential level: 121 – 145.

McCallum, W. C., Curry, S. H. (Eds.): Slow Potential Changes in the Human Brain. Plenum Press. New York. 1993. Bauer, H., Korunka, Ch., Leodolter, M.: Possible glial contribution in the electrogenesis of SPs: 23 – 35.

McCallum, W. C., Curry, S. H. (Eds.), Slow Potential Changes in the Human Brain. Plenum Press. New York. 1993. Laming, Peter R.: Slow potential shifts as indicants of glial activation and possible neuromodulation: 35 – 46.

Niedermeyer, E., Lopes da Silva, F.: *Electroencephalography*. 1998. 4th ed. Williams & Wilkins. Baltimore. Kamp, A., Lopes da Silva F.: Technological basis of EEG recordings. 110 – 121.

Obici, S., Feng, Z., Karkanias, G., Baskin, D. G., Rossetti, L.: Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. 2002. *Nat. Neurosci.* 5, 566 – 572.

Palovcik, R. A., Phillips, M. I., Kappy, M. S., Raizada, M. K.: Insulin inhibits pyramidal neurons in hippocampal slices. 1984. *Brain Res.* 309, 187 – 191.

Picton, T.W. & Hillyard, S.A., 1972. Cephalic skin potentials in electroencephalography. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, 33, 419-424.

Pietrowsky, R., Preuss, S., Born, J., Pauschinger, P., Fehm, H. L.: Effects of cholecystokinin and calcitonin on evoked brain potentials and satiety in man. *Physiol Behav* 46: 513-519, 1989.

Qiu, W. Q., Walsh, D. M., Ye, Z., Vekrellis, K., Zhang, J., Podlisny, M. B., Rosner, M. R., Safavi, A., Hersh, L. B., Selkoe, D. J.: Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid beta-protein by degradation. 1998. *J Biol Chem* 273: 32730 – 32738.

Robitaille, R.: *Neuron*. 1998. 21: 847.

Rockstroh, B./Elbert, T./Lutzenberger, W./Birbaumer, N.: The effects of slow cortical potentials on response speed. 1982. *Psychophysiology*. 19 (2), 211 – 217.

Rockstroh, B., Elbert, T., Canavan, A. G., Lutzenberger, W., Birbaumer, N.: Slow cortical potentials and behavior. 1989. 2nd ed. Urban und Schwarzenberg.

Rowland, V.: Cortical steady potential (direct current potential) in reinforcement and learning in: „Progress in Physiological Psychology“. 1968. M. Stellar and J. M. Sprague, Eds. Academic Press. New York. Vol. 2: 1 – 77.

Schiebler, Theodor Heinrich, Schmidt, Walter, Zilles, Karl (Hrsg.): *Anatomie*. 1999. Berlin, Heidelberg, New York.

Schüz, A. & Palm, G.: Density of neurons and synapses in the cerebral cortex of the mouse. 1989. *J. Comp. Neurol.* 286: 442 – 455.

Schwartz, M. W., Sipols, A., Kahn, S.E., Lattemann, D.F., Taborsky, G.J., Bergmann, R.N., Woods, S.C., Porte, D., Jr., 1990. Kinetics and specificity of insulin uptake from plasma into cerebrospinal fluid. *AM. J. Physiol.* 259, E 378-383.

Schwartz, M. W., Bergman, R. N., Kahn, S. E., Taborsky, G. J. Jr., Fisher, L. D., Sipols, A. J., Woods, S. C., Steil, G. M., Porte, D. Jr.: Evidence for entry of plasma insulin into cerebrospinal fluid through an intermediate compartment in dogs. Quantitative aspects and implications for transport. 1991. *J. Clin. Invest.* 88 (4), 1272 – 1281.

Schwartz, M. W., Figlewicz, D. P., Baskin, D. G., Woods, S. C., Porte, D. Jr.: Insulin in the brain: A hormonal regulator of energy balance. 1992. *Endocr. Rev.* 13 (3), 387 – 414.

Schwartz, M. W., Woods S. C., Porte, D. Jr., Seeley, R. J., Baskin, D. G.: Central nervous system control of food intake. 2000. *Nature*. 404 (6778), 661 – 671.

Schwartz, M. W./Woods, S. C., Seeley, R. J., Barsh, G. S., Baskin, D. G., Leibel R. L.: Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? 2003. *Diabetes*. 52, 232 -238.

Shapiro, E., Brown, S. D., Saltiel, A. R., Schwartz, J. H.: Short-term action of insulin on Aplysia neurons: generation of a possible novel modulator of ion channels. 1991. *J Neurobiol*. 22: 55 – 62.

Shibata, S., Liou, S. Y., Ueki, S., Oomura, Y.: Inhibitory action of insulin on suprachiasmatic nucleus neurons in rat hypothalamic slice preparation. 1985. *Physiol Behav*. 36: 79 - 81.

Singer, W.: Hirnentwicklung – neuronale Plastizität – Lernen. In Klinke, Rainer & Silbernagl, Stefan (Hrsg.): *Lehrbuch der Physiologie*. 1996. 2. Auflage. Stuttgart, New York. 30: 710 – 720.

Squire, L. R.: Memory and the hippocampus: A synthesis of findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Ref* 1992; 99: 195.

Trimmel, M.: *Angewandte und Experimentelle Neuropsychophysiologie*. 1990. Springer, Berlin.

Tulving, E., Markowitsch, H. J.: Episodic and declarative memory: Role of the hippocampus. 1998. *Hippocampus*, 8, 198 – 204.

Unger, J. W., Livingston, J. N., Moss, A. M.: Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanisms and functional aspects. 1991. *Prog Neurobiol*. 36: 343 – 362.

Van Houten, M., Posner, B. I.: Circumventricular organs: receptors and mediators of direct peptide hormone action on brain. 1983. *Adv Metab Disord*. 10: 269 - 289.

Waldbillig, R. J., Le Roith, D.: Insulin receptors in the peripheral nervous system: A structural und functional analysis. 1987. *Brain Res*. 409 (2), 215 – 220.

Wallace, W. C, Akar, C. A, Lyons, W. E., Kole, H. K., Egan, J. M., Wolozin, B.: Amyloid precursor protein requires the insulin signaling pathway for neurotrophic activity. 1997. *Brain Res Mol Brain Res*. 52: 213 – 227.

Wallum, B. J., Taborsky, G. J. Jr., Porte, D. Jr., Figlewicz, D. P., Jacobson, L., Beard, J. C., Ward, W. K., Dorsa, D.. 1987. Cerebrospinal fluid insulin levels increase during intravenous insulin infusions in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 64, 190 – 194.

Wan, Q., Xiong, Z. G., Man, H. Y., Ackerley, C. A., Braунton, J., Lu, W. Y., Becker, L. E., MacDonald, J. F., Wang, Y. T.: Recruitment of functional GABA A receptors to postsynaptic domains by insulin. 1997.

Waszak, M. & Obrist, W.D., 1969: Relationship of slow potentials changes to response speed and motivation in man. *Electroencephalograph. Clin. Neurophysiol.* 27, 113-120.

Yalow, R. S. & Eng, J.: Insulin in the central nervous system. 1983. *Adv. Metab disord.* 10, 341 – 354.

Zhao, W.-Q./Alkon, D. L.: Role of insulin and insulin receptor in learning and memory. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2001. Vol 177, Issues 1 - 2, 125 – 134.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Primärstruktur des Humaninsulins . Aus Löffler & Petrides, 1998, S.789. (S.3)

Abbildung 2: Structure of insulin detemir.

Aus:http://www.pharmawiki.ch/wiki/media/Insulin_detemir_1.gif. Entnommen am 15.11.2009. (S.5)

Abbildung 3: Strukturelle Darstellung der Blut-Hirn-Schranke. Aus Böcker, 2001, S. 252. (S.7)

Abbildung 4: Oberflächennegative langsame Hirnpotentiale (LP).

Aus: Birbaumer & Schmidt, 2003, S. 495. (S.14)

Abbildung 5: Plasmainsulin- und Plasmaglukosespiegel und DC-Potentiale (Hallschmid et al., 2004). (S.17)

Abbildung 6: Kurvenverlauf der durchschnittlichen Blutzuckerkonzentration (S.29)

Abbildung 7: Kurvenverlauf der durchschnittlichen Glukoseinfusion (S.30)

Abbildung 8: Durchschnittliche DC-Potentialniveaus (in μ V) (S.32)

Abbildung 9-11: Darstellung der signifikanten Bipolarskala Ergebnisse (S.37-38)

Abbildung 12-14: Darstellung der Rating Ergebnisse (S.39-41)

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Durchschnittliche DC-Potentialniveaus (S.31)

Tabelle 2: Durchschnittswerte der richtig erinnerten Wortpaare beim Paar-assoziierten Lernen (S.33)

Tabelle 3: Darstellung der richtigen Sequenzen beim Fingertapping (S.35)

Tabelle 4-5: Darstellung der EWL-K Subskalenwerte (S.35-36)

8. Abkürzungsverzeichnis und Sonderzeichen

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ANOVA	Varianzanalyse
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BMI	Body Mass Index
Ca ⁺⁺	Kalzium
Cl ⁻	Chlorid
DNA	Desoxyribonukleinsäure (englisch: DNA)
DC	Direct Current (Potentials)
EEG	Elektroenzephalogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
KG	Körpergewicht
K ⁺	Kalium
mU	Milli-Unit
Na ⁺	Natrium
pH-Wert	Wasserstoffionenkonzentration
SEM	Standard Fehler des Mittelwertes
VK	Variationskoeffizient
ZNS	Zentrales Nervensystem

Sonderzeichen

µ

®

9. Anhang: Versuchsprotokoll Teil 1**VERSTÄRKER AN!**

Protokoll Datum: _____ Sitzung: Det Norm

Versuchsperson: _____ Nummer: _____

Geburtstag: _____ Gewicht: _____ Größe: _____

RR: _____ Puls: _____ nüchtern?: _____ wann zu Bett?: _____

Einverständniserklärung
i.v.-Zugänge (Ringer-Lösung)
Vorbereitung der Ableitung: Kopf-Elektroden

Ratingskala

1-10	vor der Aufnahme	nach der Aufnahme	nach dem Essen
Hunger			
Durst			
Müdigkeit			

1. Zahlennachsprechen:

Version _____

Zahlen vorwärts: _____ (max. 14)

Zahlen rückwärts: _____ (max. 14)

Summe: _____ (max. 28)

Lernen: PAL bis zum Kriterium

1. Durchgang: _____

2. Durchgang: _____

3. Durchgang: _____

Fingertapping: Word-Dokument speichern

Gesichts-Elektroden**Impedanzen-Check****Läuft Blutabnahme? Dreiwegehahn für Infusion?****2. Zahlennachsprechen (nach EEG, vor Frühstück)**

Version _____

Zahlen vorwärts: _____ (max. 14)

Zahlen rückwärts: _____ (max. 14)

Summe: _____ (max. 28)

Abfrage: PAL

➤ richtige Lösungen: _____

Fingertapping Abfrage: Word-Dokument speichern

Versuchsprotokoll Teil 2

VERSTÄRKER AN!**Protokoll**

Datum: _____

Sitzung: Det Norm

Versuchsperson: _____

Nummer: _____

Versuchszeit (min)	Zeit	Abn.	BZ	Glukose-Rate	Anmerkungen
nach Zugang		1			Ratingskala, Zahlen , PAL, Fingertapping EWL-K, Bipolarskala
-30	9.30	2			Aufzeichnungsbeginn
-15	9.45	3			
-1	9.59	4			
+ 0	10.00				Insulin an, MARKIERUNG NOTEBOOK!!!
+ 5	10.05	5			
+10	10.10	6			
+15	10.15	7			
+20	10.20	8			
+25	10.25	9			
+30	10.30	10			
+35	10.35	11			
+40	10.40	12			
+45	10.45	13			
+50	10.50	14			
+55	10.55	15			
+60	11.00	16			
+65	11.05	---			
+70	11.10	---			
+75	11.15	17			
+80	11.20	---			
+85	11.25	---			
+ 90	11.30	18			Aufzeichnungsende, Insulin aus
+95	11.35	---			Ratingskala, Zahlen , Wortliste, Fingertapping EWL-K, Bipolarskala
+110	11.50	19			Essen
+125	12.05	20			
+140	12.20	21			
+155	12.35	22			
+160	12.40	---			Essen Ende
+175	12.45	23			
+185	12.55	---			
+195	13.05	24			Ratingskala, EWL-K, Bipolarskala
+205	13.15	---			
+220	13.30	---			
+235	13.45	---			
+250	14.00	---			
+275	14.15	---			
+300	14.30	---			

Der Proband kann nach Hause gehen, wenn sein BZ ohne Glukoseinfusion über 30 Min. stabil im euglykämischen Bereich geblieben ist

10. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Werner Kern herzlich für die Ausarbeitung und Bereitstellung des Themas für meine Dissertation danken.

Mein besonderer Dank geht weiter an meine Betreuer, Frau Dr. med. Kamila Jauch-Chara und Herrn Dipl. Psych. Manfred Hallschmid. Durch deren Einsatz, Motivation und Hilfestellung bei der Planung, Organisation und statistischen Auswertung, konnte die Studie in diesem Umfang durchgeführt und fertiggestellt werden. Herrn Dr. med. Oliver Korn möchte ich für die Auswertung der DC-Gleichspannungspotentiale danken.

Der Klinischen Forschergruppe "Selfish Brain" verdanken wir die Bereitstellung ihrer Räumlichkeiten, Materialien und Unterstützung bei der Durchführung unserer Versuche.

Für eine großartige und freundschaftliche Zusammenarbeit möchte ich meiner Mitdoktorandin Frau Katrin Dieckmann danken.

Unseren Probanden sei an dieser Stelle gedankt, die ein enormes Durchhaltevermögen bewiesen haben und ohne deren Einsatz diese Studie nicht stattfinden könnten.

Der Firma Novo Nordisc möchte ich für die Bereitstellung der Insuline Actrapid® und Levemir® danken.

Ausserdem geht ein herzlicher Dank an die Medizinisch technischen Assistentinnen des Institutes für Klinischen Chemie.

Ein großer Dank geht an meine Familie und meine Freunde, die mich in jeder Hinsicht unterstützt und motiviert haben, insbesondere erwähnen möchte ich C. Rigo, D. Atzert sowie meinen Vater, die mir mit vielen hilfreichen Korrekturvorschlägen jederzeit zur Seite standen.

11. Lebenslauf

Persönliche Angaben:

Name: Nina Alexandra Eggers
 Geburtsdatum 5. April 1980
 Geburtsort: Hamburg
 Wohnort: Calauer Strasse 70 B
 03048 Cottbus
 Staatsangehörigkeit: Deutsch

Ausbildung:

1999	Abitur am Sophie-Barat-Gymnasium in Hamburg
1999 – 2000	Freiwilliges soziales Jahr
2000/2001	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Universität Greifswald
2003	Ärztliche Vorprüfung/Physikum
2003	Klinische Ausbildung an der Universität Lübeck
2008	Staatsexamen/Approbation

Praktisches Jahr:

08/2006 – 12/2006	Innere Medizin Rheumaklinik Bad Bramstedt
12/2006 – 02/2007	Chirurgie Sana-Klinik Lübeck
02/2007 – 04/2007	Chirurgie an der University of Maryland, USA Department of Surgery
04/2007 – 05/2007	Pädiatrie an der Universität Lübeck
05/2007 – 08/2007	Pädiatrie an der University of CapeTown, South Africa, Groote Schuur Hospital

Beruf:

03/09 - derzeitig Carl-Thiem-Klinikum Cottbus, Kinderklinik
Assistenzärztin