

Aus dem Institut für Neuroendokrinologie
der Universität zu Lübeck
Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. Hendrik Lehnert

**Effekte einer zentralnervösen Insulingabe auf den Nachtschlaf
und assoziierte Parameter des Energiestoffwechsels beim Menschen**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck
– Aus der Sektion Medizin –

vorgelegt von
Benjamin Rüdel
aus Uelzen

Lübeck 2012

1. Berichterstatter/in: Priv.-Doz. Dr. rer. hum. biol. Manfred Hallschmid
2. Berichterstatter/in: Prof. Dr. med. Christian Schultz
Tag der mündlichen Prüfung: 19.10.2012

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 19.10.2012

Promotionskommission der Sektion Medizin

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
1. <i>Einleitung</i>	7
1.1 Stoffwechselregulation durch das ZNS	8
1.1.1 Fettspeichersignale: Insulin und Leptin	9
1.1.2 Hypothalamische Steuerungsnetzwerke	10
1.2 Insulin im ZNS	12
1.2.1 Insulinaufnahme ins ZNS	12
1.2.2 Zentralnervös vermittelte Insulineffekte	13
1.3 Schlaf und Metabolismus	17
1.3.1 Schlafstadien und nächtlicher Schlafverlauf	17
1.3.2 Schlaf und Glukosemetabolismus	18
1.3.3 Schlaf und Energiehomöostase	19
1.3.4 Schlaf und HHN-Achse	20
1.3.5 Schlaf und somatotrope Achse	21
2. <i>Fragestellung</i>	22
3. <i>Material und Methoden</i>	23
3.1 Versuchspersonen	23
3.2 Versuchsablauf	24
3.3 Insulin-Nasenspray	26
3.4 Schlaf	27
3.4.1 Polysomnographische Schlafregistrierung	27
3.4.2 Schlaffragebogen A – revidierte Fassung	28
3.5 Blutglukose- und Hormonkonzentrationen	28
3.5.1 Blutentnahme, Glukosebestimmung, Aufbereitung der Proben	28
3.5.2 Hormonbestimmung	30
3.6 Energiehaushalt	30
3.6.1 Indirekte Kalorimetrie	30
3.6.2 Standardisiertes Frühstücksbuffet	31
3.7 Befindlichkeit	33
3.7.1 Eigenschaftswörterliste – Kurzversion	33
3.7.2 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen – Kurzform A	33
3.7.3 Visuelle Analogskala	34

3.7.4	Stanford Schläfrigkeits-Skala	34
3.8	Datenaufbereitung und Statistik	35
4.	<i>Ergebnisse</i>	36
4.1	Schlaf und Müdigkeit	36
4.1.1	Schlafdauer und Schlafarchitektur	36
4.1.2	Subjektive Schlafqualität	37
4.1.3	Müdigkeit	37
4.2	Blutglukose und Hormone	39
4.2.1	Blutglukose	39
4.2.2	Insulin, C-Peptid und Glukagon	41
4.2.3	Leptin und Ghrelin	46
4.2.4	ACTH und Cortisol	48
4.2.5	GH	50
4.3	Energiehaushalt und Hunger- und Durstgefühl	52
4.3.1	Ruheenergieumsatz	52
4.3.2	Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung	53
4.3.3	Hunger- und Durstgefühl	55
4.4	Kreislaufparameter und generelle Befindlichkeit	55
4.4.1	Herzfrequenz und Blutdruck	55
4.4.2	Generelles Wohlbefinden	56
5.	<i>Diskussion</i>	57
5.1	Schlaf und Müdigkeit	57
5.2	Blutglukose und Hormone	58
5.2.1	Glukosemetabolismus: Glukose, Insulin, C-Peptid und Glukagon	58
5.2.2	Energiehomöostase: Leptin und Ghrelin	63
5.2.3	HHN-Achse: ACTH und Cortisol	64
5.2.4	Somatotrope Achse: GH	65
5.3	Energiehaushalt und Hunger- und Durstgefühl	67
5.4	Kreislaufparameter und generelles Wohlbefinden	70
6.	<i>Zusammenfassung</i>	71
	Literaturverzeichnis	72
	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	86
	Danksagungen	87
	Lebenslauf	88

Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AgRP	Agouti-bezogenes Peptid (Agouti-related peptide)
AIRg	glukoseabhängige Insulinausschüttung (acute insulin response to glucose)
α -MSH	α -Melanozyten-stimulierendes Hormon
ALT	Alanin-Aminotransferase
ANOVA	Varianzanalyse (analysis of variance)
AP	Alkalische Phosphatase
ARC	Nucleus arcuatus
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
BIA	Bioimpedanzanalyse
BMI	Body-Mass-Index
BZ	Blutzucker
bzgl.	bezüglich
Ca^{2+}	Calcium
CART	Kokain- und Amphetamin-reguliertes Transkript (cocaine- and amphetamine-regulated transcript)
DI	Dispositionsindex
DM	Diabetes mellitus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (ethylenediaminetetraacetic acid)
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
EMG	Elektromyogramm
EOG	Elektrookulogramm
EWL(-K)	Eigenschaftswörterliste (– Kurzversion)
GH	Wachstumshormon (growth hormone)
GHIH	Somatostatin (growth hormone inhibiting hormone)
GHRH	Somatoliberin (growth hormone releasing hormone)
HHN-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse
i.n.	intranasal
i.v.	intravenös

IE	Internationale Einheiten
K ⁺	Kalium
MC3/4-R	Melanocortin-Rezeptoren vom Typ 3/4
MDBF(-A)	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (– Kurzform A)
MW	Mittelwert
Na ⁺	Natrium
NaCl	isotone Kochsalzlösung (Natriumchlorid)
NH	Nachthälfte
NPY	Neuropeptid Y
POMC	Proopiomelanocortin
PVK	peripherer Venenkatheter
REM	REM-Schlaf (rapid eye movement)
RQ	Respiratorischer Quotient
S.	Seite
S1 – 4	Schlafstadium 1 – 4
SEM	Standardfehler (standard error of the mean)
SSS	Stanford Schläfrigkeits-Skala (Stanford Sleepiness Scale)
SWS	Deltaschlaf (slow wave sleep)
Tab.	Tabelle
tgl.	täglich
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon, Thyreotropin
u.a.	unter anderem
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VAS	Visuelle Analogskala
VK	Variationskoeffizient
VN	Versuchsnacht
W	Wachzustand
ZNS	zentrales Nervensystem

1. Einleitung

Mehr als jemals zuvor steht in unserer modernen Gesellschaft das Körpergewicht und dessen Beeinflussung im Mittelpunkt des allgemeinen Interesses. Dabei hat v.a. das Schönheitsideal vom schlanken Menschen das Thema Abnehmen zu einem zentralen Aspekt des alltäglichen Lebens gemacht. Aber auch die gesundheitlichen Probleme, die mit der Adipositas assoziiert sind, haben wichtigen Anteil daran und erlangen durch die weltweit zunehmende Anzahl übergewichtiger Menschen (130) immer mehr Relevanz. Vor allem als Komponente des metabolischen Syndroms stellt die Adipositas ein großes Problem dar. Dieses umfasst die wichtigsten beeinflussbaren Risikofaktoren für die Erkrankungen des Kreislaufsystems, die wiederum die weltweit häufigste Todesursache sind (100), und die Adipositas ist die einzige Komponente, bei der eine überzeugende medikamentöse Beeinflussung bisher nicht möglich ist.

Aufgrund dieser Zusammenhänge erfährt die Erforschung der Stoffwechselregulation bereits seit längerer Zeit großes wissenschaftliches Interesse und hat in den vergangenen Jahren einige wichtige Fortschritte gemacht. Neben der Erkenntnis, dass das zentrale Nervensystem (ZNS) ein wesentliches Integrationsorgan für die langfristige Steuerung von Nahrungsaufnahme, Energieumsatz und Körpergewicht ist, zeigte sich, dass einigen Hormonen eine wichtige Rolle als Informationsübermittler an das ZNS zukommt. Dabei hat sich – neben der Entdeckung neuer Hormone wie Leptin und Ghrelin – das bereits seit langem bekannte Hormon Insulin zusätzlich zu seiner Rolle in der peripheren Blutzucker (BZ, Blutglukose)-Regulation als wichtiges sog. Fettspeichersignal erwiesen, das auf zentralnervöser Ebene langfristig die Energieaufnahme und den Energieumsatz beeinflusst. Die Beobachtung, dass sich in modernen, leistungsorientierten Gesellschaften parallel zum starken Anstieg der Zahl übergewichtiger Menschen die durchschnittliche Schlafdauer stetig verkürzt hat, ließ darüberhinaus die Vermutung aufkommen, dass der Schlaf einen wichtigen Einfluss auf diese Regulationsmechanismen hat, was in den letzten 10–20 Jahren wissenschaftlich untermauert werden konnte.

Vor diesem wissenschaftlichen Hintergrund soll die vorliegende Arbeit einen Beitrag zur Erforschung der zentralnervösen (im Folgenden auch als „zentral“ bezeichnet) Regulationsmechanismen des Stoffwechsels leisten. Dabei steht insbesondere der zentrale Einfluss von Insulin auf den Nachtschlaf und schlafassoziierte metabolische Parameter beim Menschen im Mittelpunkt der Untersuchung.

1.1 Stoffwechselregulation durch das ZNS

Bei der Regulation des Stoffwechsels durch das ZNS interagieren im Wesentlichen drei Systeme miteinander (105). Das Energiehomöostase-System im Hypothalamus bildet das Zentrum der langfristigen Stoffwechselregulation, steht aber in wechselseitiger Beziehung mit dem Sättigungszentrum im Hirnstamm (kurzfristige Regulation von Mahlzeit zu Mahlzeit) und dem Belohnungssystem, dessen Strukturen im gesamten ZNS verteilt sind (Festlegung des hedonischen Wertes der Nahrung). Da die meisten Erkenntnisse zur (in dieser Studie relevanten) zentralnervösen Insulinwirkung das hypothalamische Energiehomöostase-System betreffen, soll dieses im Folgenden ausführlicher vorgestellt werden.

Eine wesentliche Rolle des Hypothalamus (s. Abb. 1 A, Seite [S.] 8) in der Kontrolle der Energiehomöostase zeigten bereits 1940 erste Experimente an Nagetieren, bei denen eine beidseitige Läsion dieser Hirnregion zu Übergewicht führte (64). Inzwischen weiß man, dass nicht – wie zunächst angenommen – einzelne Zentren, sondern ein komplexes Netzwerk aus anabolen und katabolen Schaltwegen im Hypothalamus für die Stoffwechselregulation verantwortlich ist (zusammengefasst in 158).

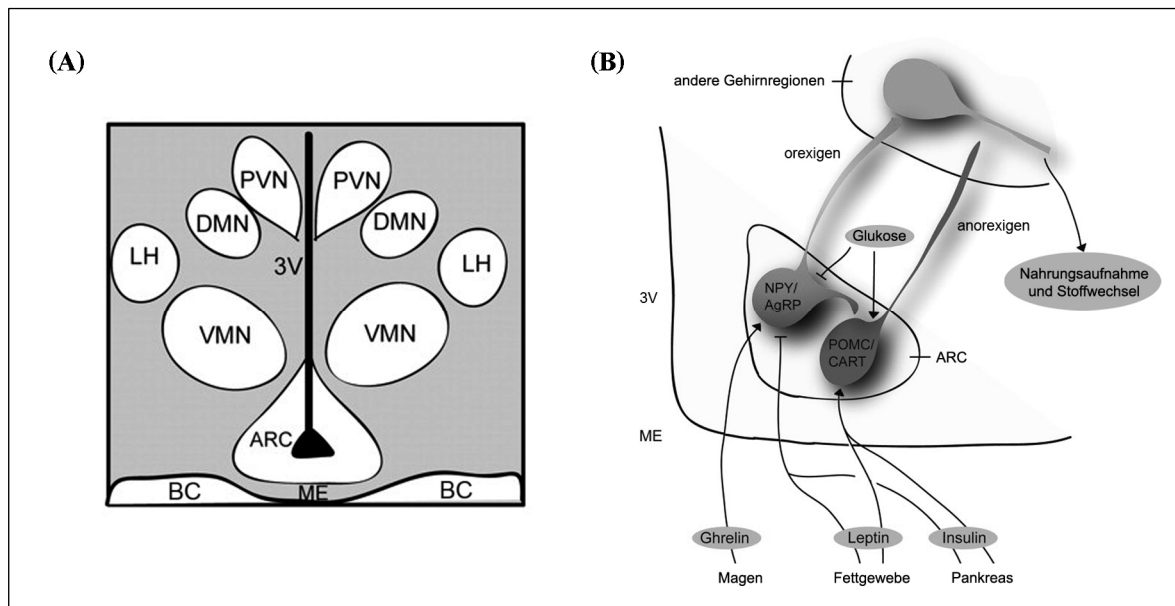


Abbildung 1. Hypothalamisches Energiehomöostase-System (108 [übersetzt und modifiziert]). **(A)** Schematische Darstellung eines Koronarschnitts durch den Hypothalamus mit wichtigen Kerngebieten der zentralnervösen Stoffwechselregulation und angrenzenden Hirnstrukturen. **(B)** Schematische Darstellung des Nucleus arcuatus mit orexigenen NPY/AgRP-Neuronen und anorexigenen POMC/CART-Neuronen als primäre hypothalamische Integrationsstation für stoffwechselrelevante Signale aus der Körperperipherie. PVN, Nucleus paraventricularis; DMN, Nucleus dorsomedialis; LH, Lateraler Hypothalamus, Nucleus lateralis; VMN, Nucleus ventromedialis; ARC, Nucleus arcuatus; 3V, 3. Ventrikel; ME, Eminentia mediana; BC, Cisterna basalis; NPY, Neuropeptid Y; AgRP, Agouti-bezogenes Peptid; POMC, Proopiomelanocortin; CART, Kokain- und Amphetamin-reguliertes Transkript.

1.1.1 Fettspeichersignale: Insulin und Leptin

Die für die Stoffwechselregulation wichtigen Schaltwege im Hypothalamus werden durch afferente Signale aus der Körperperipherie aktiviert bzw. gehemmt (s. Abb. 1 B, S. 8). Diese Signale lassen sich in drei Gruppen einteilen (105): Fettspeichersignale (Insulin, Leptin), gastrointestinale Hormone (z.B. Ghrelin, Peptid YY₃₋₃₆) und nährstoffverwandte Substanzen (z.B. langkettige Fettsäuren, Glukose, Leucin). Da in der Erforschung der zentralen Stoffwechselregulation bisher den Fettspeichersignalen die meiste Aufmerksamkeit geschenkt wurde und sie in der vorliegenden Studie die größte Rolle spielen, sollen v.a. diese vorgestellt werden. Aus den beiden anderen Gruppen ist für die vorliegende Arbeit lediglich Ghrelin von weiterer Bedeutung, das v.a. von Zellen im Bereich der Magenfundusdrüsen und des Darms gebildet wird (40) und auf hypothalamischer Ebene zu einer Steigerung der Nahrungsaufnahme und einer Zunahme des Körpergewichts führt (112, 193).

Die Existenz von Fettspeichersignalen wurde erstmals im lipostatischen Modell von Kennedy (77) vermutet, das sich von den in den 1950er Jahren aufgekommenen Modellen zur Regulation der Nahrungsaufnahme heute weitgehend durchgesetzt hat (192). Kennedy folgte damals aus seinen Versuchen mit Ratten das mögliche Vorhandensein noch unbekannter, im Blutkreislauf zirkulierender Signale, die Veränderungen der Körperfettmenge an den Hypothalamus melden und damit langfristig die Nahrungsaufnahme an den Energieverbrauch anpassen. Die im Laufe der folgenden Jahre vorgeschlagenen Kriterien für diese sog. Fettspeichersignale („adiposity signals“) werden bisher nur von den Hormonen Insulin und Leptin erfüllt (158). Beide zirkulieren im Blut proportional zur Körperfettmenge (3, 35) und die Aufnahme ins ZNS erfolgt in Relation zur Blutkonzentration (154, 188). Es existieren Insulin- und Leptinrezeptoren in Gehirnregionen, die für die Energiehomöostase wichtig sind (8, 178) und das Vorhandensein des jeweiligen Hormons in diesen Regionen führt zu einer verminderten Nahrungsaufnahme und zu einer Reduktion des Körpergewichts (27, 190), während dessen Fehlen den gegenteiligen Effekt hat (161, 194).

Darüberhinaus scheinen sowohl Insulin (10) als auch Leptin (68, 147) zu einer Steigerung des Energieumsatzes zu führen, auch wenn die Studienlage diesbezüglich weniger eindeutig ist (67, 142). Insgesamt wird beiden Hormonen deshalb auf zentraler Ebene eine katabole Wirkung zugeschrieben.

Durch Verteilungsuntersuchungen von Insulin- (189) und Leptinrezeptoren (49) und die genaue Lokalisation von zentralen Insulin- (118) und Leptineffekten (155) konnte der Nucleus arcuatus (ARC) als primäre Zielstruktur der beiden Hormone in der hypothalamischen

Stoffwechselregulation identifiziert werden. Trotz der spezifischen Bindung von Insulin und Leptin an ihren jeweiligen Rezeptor gibt es jedoch deutliche Interaktionen in der Wirkung der beiden Fettspeichersignale. Bei übergewichtigen Leptinrezeptor-defizienten Ratten ließ sich nach zentraler Insulingabe nicht die sonst zu beobachtende anorexigene Insulinwirkung nachweisen (69). Umgekehrt führte eine selektive Ausschaltung zentraler Insulinrezeptoren (NIRKO, neural insulin receptor knock out) bei Mäusen zu einer Zunahme der Körperfettmenge trotz erhöhter Leptinspiegel (25). Die zentrale Wirkung der beiden Hormone hängt also von der intakten Funktion des jeweils anderen ab. Für die kombinierte Wirkung von Insulin und Leptin auf zentralnervöser Ebene zeigte sich, dass sowohl redundante als auch additive Effekte eine Rolle spielen (2). Zudem hängt die periphere Produktion von Leptin, die in den Adipozyten stattfindet (99), von der insulinabhängigen Glukoseaufnahme in die Fettzellen ab (109).

1.1.2 Hypothalamische Steuerungsnetzwerke

Die erste hypothalamische Integrationsstation für die afferenten Signale aus der Körperperipherie (unter anderem [u.a.] Insulin und Leptin) ist der ARC (186). Hier befindet sich ein neuropeptiderges Netzwerk mit im Wesentlichen zwei Nervenzellpopulationen antagonistischer Wirkung (s. Abb. 1 B, S. 8). POMC/CART-Neurone, die Proopiomelanocortin (POMC) und das Kokain- und Amphetamin-regulierte Transkript (CART, cocaine- and amphetamine-regulated transcript) bilden, stellen die erste Station kataboler Signalwege dar und führen zu einer verminderten Nahrungsaufnahme, einem erhöhten Energieverbrauch und einer Abnahme des Körpergewichts. NPY/AgRP-Neurone, die Neuropeptid Y (NPY) und Agouti-bezogenes Peptid (AgRP, Agouti-related peptide) exprimieren, aktivieren hingegen anabole Schaltwege und verursachen über eine gesteigerte Nahrungsaufnahme und einen verminderten Energieverbrauch eine Zunahme des Körpergewichts (87).

Die POMC/CART-Neurone im ARC produzieren α -Melanozyten-stimulierendes Hormon (α -MSH), ein Melanocortin, das durch gewebsspezifische Spaltung aus dem Prohormon POMC entsteht (31) und das wichtigste anorexigene Neuropeptid darstellt (129). α -MSH entfaltet seine Wirkung durch Bindung an die Melanocortin-Rezeptoren vom Typ 3 und 4 (MC3- und MC4-R), die v.a. im ZNS vorkommen (107). Neben entsprechenden Ergebnissen mit Agonisten und Antagonisten dieser Rezeptoren im Tierversuch (47) zeigte sich bei normalgewichtigen Menschen nach sechswöchiger intranasaler (i.n.) Gabe eines MC4-R-Agonisten eine signifikante Reduktion von Körpergewicht und Körperfett

(48). Zusätzlich exprimieren die POMC/CART-Neurone das erst seit 10–15 Jahren bekannte Neuropeptid CART (44, 88), das ebenfalls anorexigene Effekte in der Stoffwechselregulation entfaltet (89).

Die NPY/AgRP-Neurone im ARC bilden NPY, das wichtigste orexigene Neuropeptid. Neben einer vermehrten Nahrungsaufnahme und einer deutlichen Gewichtszunahme führt es im Tierversuch nach zentraler Gabe auch zu einer Senkung des Energieverbrauchs (17, 167) und zeigt damit insgesamt eine anabole Wirkung. NPY entfaltet seine Wirkung durch Bindung an Y1- und/oder Y5-Rezeptoren (133), die v.a. im Bereich des hypothalamischen Nucleus paraventricularis exprimiert werden (51). Daneben produzieren NPY/AgRP-Neurone das Neuropeptid AgRP, das als endogener Antagonist am MC3- und MC4-R wirkt (121). Es hemmt die durch α -MSH induzierte Reduktion der Nahrungsaufnahme und vermittelt insgesamt ebenfalls orexigene Effekte (140). Außerdem sezernieren die NPY/AgRP-Neurone γ -Aminobuttersäure (GABA) und hemmen damit bei ihrer Aktivierung zusätzlich die benachbarten anorexigenen POMC/CART-Neurone (36, 176).

Die zentralen Insulin- und Leptineffekte werden über die POMC/CART- und NPY/AgRP-Neurone vermittelt. Beide Nervenzellpopulationen exprimieren sowohl Rezeptoren für Insulin als auch für Leptin (16, 29, 106). Inzwischen konnte gezeigt werden, dass die Expression von POMC (als Vorstufe des anorexigenen α -MSH) durch Insulingabe gesteigert wird und bei Insulinmangel (Diabetes mellitus [DM]) reduziert ist (16, 83). Gleiches gilt für die Leptingabe und den Leptinmangel (Leptin-Defizienz; 156). Bei den orexigenen NPY/AgRP-Neuronen findet sich eine umgekehrte Regulation mit einer Hemmung durch Insulin- und Leptingabe und einer Steigerung der Aktivität bei Insulin- und Leptinmangel (153, 161). Es ist allerdings anzumerken, dass der Diabetes-bedingte Insulinmangel mit einem Leptinmangel einhergeht, der die genannten Effekte ebenfalls hervorrufen könnte.

Die Vermittlung der anorexigenen Effekte der POMC/CART-Neurone und der orexigenen Effekte der NPY/AgRP-Neurone erfolgt zum einen über die Wirkung ihrer jeweiligen Neuropeptide (v.a. α -MSH bzw. NPY) auf Neurone in nachgeschalteten hypothalamischen Kerngebieten (wie dem Nucleus paraventricularis und dem lateralen Hypothalamus), wo wiederum weitere Neuropeptide gebildet werden (158). Zum anderen spielt die intrazelluläre Signalweiterleitung in den POMC/CART- und NPY/AgRP-Neuronen bei der Entfaltung ihrer jeweiligen Wirkung eine wichtige Rolle, da hier über ATP-abhängige K^+ -Kanäle die Umsetzung in elektrische Signale stattzufinden scheint (42). Darüberhinaus findet auf intrazellulärer Ebene die Integration der verschiedenen afferenten Signale statt (186), so-

dass hier u.U. auch die Ursachen für die Interaktionen der zentralen Insulin- und Leptinwirkung liegen könnten (131).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Insulin und Leptin ihre anorexigene Wirkung entfalten, indem sie im hypothalamischen ARC anorexigene POMC/CART-Neurone aktivieren und orexigene NPY/AgRP hemmen. Diese wiederum vermitteln ihre Wirkung v.a. über den Einfluss ihrer jeweiligen Neuropeptide (α -MSH, CART bzw. NPY, AgRP) auf nachgeschaltete hypothalamische Kerngebiete.

1.2 Insulin im ZNS

Obwohl es auch Hinweise darauf gibt, dass Insulin im ZNS sezerniert wird (101), geht man gegenwärtig im Allgemeinen davon aus, dass das ZNS selbst keine relevante Insulinproduktion aufweist (6). Somit bezieht sich der Großteil bisheriger Erkenntnisse auf die zentralnervöse Wirkung peripher ausgeschütteten Insulins. Dabei muss das im Pankreas gebildete Hormon, das in der Körperperipherie eines der wichtigsten anabolen Stoffwechselsignale darstellt (Förderung der Glukosedeposition in Muskel- und Fettgewebe, Hemmung der hepatischen Glukoseproduktion, Förderung der Lipogenese, Hemmung der Lipolyse), als hydrophiles Proteohormon die Blut-Hirn-Schranke passieren, um aus dem Blut ins ZNS zu gelangen (191).

1.2.1 Insulinaufnahme ins ZNS

1.2.1.1 Physiologische Transportwege

Der Großteil der Insulinaufnahme aus dem Blut ins ZNS erfolgt aktiv über einen rezeptorvermittelten, transendothelialen Transport (191), dessen Geschwindigkeit (zumindest im Tierversuch) mit zunehmender Blutinsulinkonzentration ansteigt und eine Sättigungskinetik aufweist (9, 157). Dabei ist zu beachten, dass sowohl das Nahrungsaufnahmeverhalten als auch das Körpergewicht die Insulinaufnahme ins ZNS beeinflussen können (76, 171, 179). Neben dem aktiven Transport über die Blut-Hirn-Schranke ist auch ein passiver Transport durch Diffusion im Bereich der zirkumventrikulären Organe möglich, denen eine klassische Blut-Hirn-Schranke fehlt (191). Dieser Mechanismus scheint aber nur wenig zur gesamten Insulinaufnahme ins ZNS beizutragen.

1.2.1.2 Applikationsmöglichkeiten beim Menschen

Zur Untersuchung zentralnervöser Insulineffekte beim Menschen ist die periphere Insulingabe (v.a. intravenös [i.v.]) zwar möglich, jedoch nur bedingt geeignet. Die peripheren Insulineffekte (v.a. Hypoglykämie, Hypokaliämie) können zur Gefährdung der Probanden führen und interferieren mit den zentralen Effekten, was die Aussagekraft entsprechender Versuche deutlich mindert. Die Clamp-Technik (z.B. 82), mit der diese Probleme bei der i.v. Gabe teilweise umgangen werden können, ist nur kurzfristig und unter Laborbedingungen anwendbar und damit keine vollständig zufriedenstellende Lösung. Stattdessen hat sich die i.n. Gabe in diesem Zusammenhang als gute Applikationsmöglichkeit erwiesen (56). Im Jahr 2002 konnte gezeigt werden, dass i.n. appliziertes Insulin (40 IE) beim Menschen innerhalb von 30–40 Minuten den Liquorraum erreicht, ohne signifikante Veränderungen der Insulin- oder Glukosespiegel im Blut hervorzurufen (21). Außerdem konnten in zahlreichen Humanstudien nach i.n. Gabe zentrale Insulineffekte nachgewiesen werden (10-12, 15, 54, 55, 57-59, 62, 79, 90). Dabei haben sich für die i.n. Gabe 160 IE Normalinsulin als Tageshöchstdosis, bei der keine nachteiligen peripheren Nebenwirkungen auftreten, etabliert (160 IE innerhalb einiger Minuten zur Untersuchung akuter Effekte; 4×40 IE/Tag über mehrere Wochen zur Untersuchung langfristiger Effekte).

Intranasal applizierte Substanzen können auf zwei grundsätzlich unterschiedlichen Wegen aus der Nasenhöhle ins ZNS gelangen, dem intrazellulären Transportweg (v.a. über die Riechneurone) und dem extrazellulären (auch parazellulären) Transportweg (70). Aufgrund der relativ langen Dauer des intraneuronalen Transports im Vergleich zu den schnell einsetzenden Insulineffekten nach i.n. Gabe geht man zurzeit davon aus, dass die Insulinaufnahme auf dem extrazellulären Weg stattfindet (56, 70, 79). Dieser beschreibt den Durchtritt durch Spalten im Riechepithel und die Diffusion in den Subarachnoidalraum, von wo aus das Peptid das Hirnparenchym erreicht (4, 56).

1.2.2 Zentralnervös vermittelte Insulineffekte

Viele Studien haben gezeigt, dass Insulin im Gehirn wichtige Funktionen v.a. in den Bereichen Metabolismus (Nahrungsaufnahme, Energieverbrauch, Körpergewicht, Glukoseproduktion), Kognition (Lernen, Gedächtnis) und Reproduktion (Follikelreifung, Spermatogenese) übernimmt (25, 123, 169). Im Folgenden sollen die im Rahmen der vorliegenden Arbeit relevanten Erkenntnisse vorgestellt werden, der Schwerpunkt liegt dabei auf den Insulineffekten, die nach i.n. Gabe beim Menschen beobachtet wurden.

1.2.2.1 Energiehomöostase und Hungergefühl

Im Jahr 1999 konnte erstmals nachgewiesen werden, dass die i.n. Insulingabe die Hirnaktivität beim Menschen beeinflusst und zu ähnlichen Veränderungen führt, wie sie auch im Rahmen einer Hyperinsulinämie beobachtet wurden (79, 82). Inzwischen hat sich gezeigt, dass Insulin nicht nur im Tiermodell (s. Kap. 1.1.1), sondern auch beim Menschen als Fettspeichersignal wirkt. Eine (euglykämische) Erhöhung der Blutinsulinspiegel geht auch hier mit einer Insulinerhöhung im Liquor einher (188). Außerdem führt die 8-wöchige i.n. Gabe von 160 IE Insulin/Tag (zur Verstärkung des zentralnervösen Insulinsignals) bei normalgewichtigen Männern zu einer Reduktion von Körpergewicht, Körperfettmasse, Bauchumfang und Hungergefühl (58). Die akute i.n. Insulingabe (160 IE) vermindert bei männlichen Probanden die Nahrungsaufnahme (allerdings ohne Beeinflussung des Hungergefühls) und steigert die nahrungsinduzierte Thermogenese (10, 15). Dazu passend konnte (während der Bewältigung einer nahrungsassoziierten Aufgabe) in der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) eine verminderte Aktivität in Hirnarealen nachgewiesen werden, die an nahrungsabhängigen Prozessen beteiligt sind (v.a. Gyrus fusiformis, Hippocampus), wenn den Probanden zuvor Insulin i.n. (160 IE) verabreicht wurde (54).

Bei übergewichtigen Männern ließ sich hingegen nach 8-wöchiger i.n. Insulingabe (160 IE/Tag) keine Veränderung des Körpergewichts oder Hungergefühls nachweisen (57). Auch der zusätzlich bestimmte Ruheenergieumsatz (nach 4 und 8 Wochen) war unverändert. Da die Gedächtnisleistung der untersuchten Männer durch die Insulingabe jedoch verbessert wurde, deuten die Ergebnisse auf eine für Stoffwechselregulationsareale spezifische, zentrale Insulinresistenz bei Adipositas hin. Passend hierzu zeigte eine magnetenzephalographische Untersuchung (MEG) bei übergewichtigen Probanden im Vergleich zu normalgewichtigen Versuchsteilnehmern nach i.n. Insulingabe (160 IE) eine Verminderung nahrungsassoziiierter zentraler Insulinfunktionen (55). Darüberhinaus scheint die Adipositas aber auch von einer verminderten Insulinaufnahme ins ZNS begleitet zu sein (76, 78).

1.2.2.2 Glukosemetabolismus, HHN-Achse und Blutdruck

Neben den bisher berichteten Effekten auf die Energiehomöostase zeigten sich in mehreren (erst kürzlich veröffentlichten) Studien nach akuter i.n. Insulingabe (160 IE) auch Anzeichen für einen Einfluss auf den Glukosemetabolismus beim Menschen im Sinne einer Erhöhung der systemischen (d.h. nicht-zentralnervösen) Insulinsensitivität (10, 59, 62). Bereits zuvor hatte sich in Versuchen mit Nagetieren gezeigt, dass Insulin im Hypothalamus

bei konstanten Blutkonzentrationen von Glukose, Insulin und Glukagon eine Steigerung der hepatischen Insulinsensitivität (mit folglich verminderter Glukoseproduktion der Leber) bewirkt, während die periphere Insulinsensitivität (und damit die Glukosedeposition in Muskel- und Fettgewebe) unbeeinflusst blieb (119). Dabei schien dieser zentralnervös vermittelte Effekt etwa zur Hälfte für die inhibitorische Wirkung erhöhter Blutinsulinkonzentrationen auf die Glukoseproduktion der Leber verantwortlich zu sein. In einer weiteren Studie ließ sich nachweisen, dass die verminderte Glukoseproduktion ausschließlich auf einer Reduktion der hepatischen Glukoneogenese (ohne Einfluss auf die Glykogenolyse) beruht. Außerdem zeigte sich, dass diese zentralnervöse Insulinwirkung über ATP-abhängige K^+ -Kanäle vermittelt wird und die entsprechenden Signale mit den efferenten Fasern des Nervus vagus (N. X) vom ZNS zur Leber gelangen (128). Auf hypothalamischer Ebene scheint dabei ausschließlich die Verstärkung des Insulinsignals in AgRP-exprimierenden Neuronen für die Effekte auf den hepatischen Glukosemetabolismus verantwortlich zu sein (96). Während die speziesübergreifende Relevanz dieser insulinabhängigen sog. Gehirn-Leber-Achse für die hepatische Insulinsensitivität vor dem Hintergrund von Studien mit Hunden noch umstritten ist (1, 30, 46, 132), sind erste Ergebnisse aus Humanstudien bisher durchaus mit den bei Nagetieren gefundenen Zusammenhängen vereinbar (84).

Neben den unmittelbar metabolischen Effekten führt die i.n. Insulingabe (v.a. nach langfristiger Applikation) sowohl bei normalgewichtigen als auch bei übergewichtigen Probanden zu einer reduzierten Aktivität der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HHN-Achse), die sich in verminderten Blutkonzentrationen von Adrenocorticotropem Hormon (ACTH) und Cortisol äußert (12, 57). Auch die stressbedingte Steigerung der HHN-Achsen-Aktivität wird durch die i.n. Insulingabe (40 IE) abgeschwächt (20). Der Mechanismus, der diesen Effekten zugrundeliegt, ist bisher nicht bekannt, eine zentral vermittelte Reduktion der HHN-Achsen-Aktivität würde aber mittelbar synergistisch mit den direkteren katabolen Effekten von Insulin im ZNS wirken (32).

Weiterhin zeigten sich in drei Studien nach akuter, nicht aber nach langfristiger i.n. Gabe von Insulin leichte Erhöhungen arterieller Blutdruckwerte (11, 57, 58).

1.2.2.3 Gedächtnis und Stimmung

Insulin entfaltet im ZNS des Menschen v.a. eine positive Wirkung auf das deklarative Gedächtnis (Lernen und Erinnern von Fakten und Ereignissen), während das nicht-deklarative Gedächtnis (Einüben und Ausführen motorischer, perzeptueller und kognitiver Fähigkei-

ten) nicht insulinabhängig zu sein scheint (14). Der positive Effekt zeigte sich sowohl nach i.v. (euglykämischer) als auch nach i.n. Insulingabe (12, 15, 57, 82). Auch deklarative Gedächtnisfunktionen von Patienten mit kognitiver Beeinträchtigung (z.B. Morbus Alzheimer) profitieren unter bestimmten Umständen von einer i.n. Insulingabe (135-137). Tierversuche zum zentralnervösen Insulineinfluss auf das Gedächtnis zeigen hingegen weniger eindeutige Ergebnisse (123).

Daneben beeinflusst Insulin beim Menschen auch die Stimmung, indem es positive Gefühle (v.a. Wohlbefinden, Selbstbewusstsein, Extraversion) verstärkt und negative Gefühle (v.a. Ärger, Ängstlichkeit, Niedergeschlagenheit, Introversion) abschwächt (12, 57, 82).

1.2.2.4 Geschlechtsunterschiede

Neben den bisher geschilderten Ergebnissen zeigten sich in den Studien zur zentralnervösen Insulinwirkung auch deutliche Geschlechtsunterschiede. So führte die akute i.n. Insulingabe (160 IE, Applikation vor dem Essen) ausschließlich bei Männern zu einer Verminderung der Nahrungsaufnahme, während nur Frauen eine Verbesserung des deklarativen Gedächtnisses zeigten (15). Darüberhinaus konnte kürzlich belegt werden, dass bei Frauen, die bzgl. der metabolischen Effekte auch als Beispiel einer nur mäßigen zentralen Insulinsensitivität angesehen werden können (15, 58), eine Dosis von 160 IE Insulin i.n. dann den Verzehr besonders schmackhafter Snacks reduziert, wenn sie im Anschluss an eine vorangehende Mahlzeit appliziert wurde, sodass das Hormon generell eher die Sättigung zu steigern als den (Nüchtern-)Hunger zu mindern scheint (59). Nach langfristiger i.n. Insulingabe (160 IE/Tag) zeigte sich ebenfalls ein eindeutiger Geschlechtsunterschied mit einer Reduktion des Körpergewichts (durch eine verminderte Körperfettmasse) bei den Männern im Gegensatz zu einer Körpergewichtszunahme (durch Wassereinlagerung) bei den Frauen (58). Im Tierversuch ließ sich nachweisen, dass auch männliche Ratten sensibler für die zentralen katabolen Insulineffekte sind, während die weiblichen Tiere stärker durch die katabole Wirkung von Leptin beeinflusst wurden (34). Es konnte gezeigt werden, dass bei Ratten das Östrogen Östradiol für die unterschiedliche Wirksamkeit der beiden Fettspeichersignale verantwortlich ist, indem es die Insulinwirkung hemmt und die Leptinwirkung verstärkt (33). Beim Menschen scheint der Östrogeneinfluss für die zentralen metabolischen Insulineffekte allerdings eine geringere Rolle zu spielen, da sich auch bei postmenopausalen Frauen (mit niedrigen Östrogenspiegeln) kein Effekt der i.n. Insulingabe (160 IE) auf die Nahrungsaufnahme nachweisen ließ (90).

1.3 Schlaf und Metabolismus

1.3.1 Schlafstadien und nächtlicher Schlafverlauf

Der Schlaf des Menschen setzt sich aus verschiedenen Stadien zusammen, die mithilfe der polysomnographischen Schlafregistrierung (EEG, EOG und EMG) unterschieden werden können. Neben dem Wachzustand (W) gibt es vier sog. non-REM-Schlafstadien (S1, S2, S3, S4), die dem REM-Schlaf (REM) gegenübergestellt werden. Die Schlafstadien S1 bis S4 unterscheiden sich in ihrer Schlaftiefe (höhere Stadien entsprechen tieferem Schlaf, d.h. sie erfordern stärkere Weckreize), wobei die Stadien S3 und S4 häufig zusammenfassend nach den im EEG auftretenden niedrigfrequenten und hochamplitudigen Deltawellen als slow wave sleep (SWS) bzw. Deltaschlaf bezeichnet werden. Demgegenüber ist der REM-Schlaf im EEG von einer dem Wachzustand ähnlichen Mischung aus hochfrequenten und niedrigamplitudigen Wellen geprägt, die von einem minimalen Muskeltonus und den namensgebenden schnellen Augenbewegungen (rapid eye movement) begleitet werden.

Jeweils eine non-REM-Schlafphase (bestehend aus den Schlafstadien S1 – S4) bildet mit der folgenden REM-Schlafphase einen etwa 90-minütigen Schlafzyklus, der sich im Verlauf der Nacht periodisch (vier- bis sechsmal) wiederholt. Während diese Schlafzyklen in der 1. Nachthälfte (NH) vom SWS dominiert werden (mit nur kurzen REM-Phasen), beherrscht in der 2. NH der REM-Schlaf die Schlafzyklen (bei nur wenig SWS), sodass sich ein typisches Schlafprofil ergibt (s. Abb. 2, S. 17). Mit höherem Alter nimmt die Gesamtschlafdauer aufgrund einer Reduktion des Deltaschlafs und REM-Schlafs ab (180).

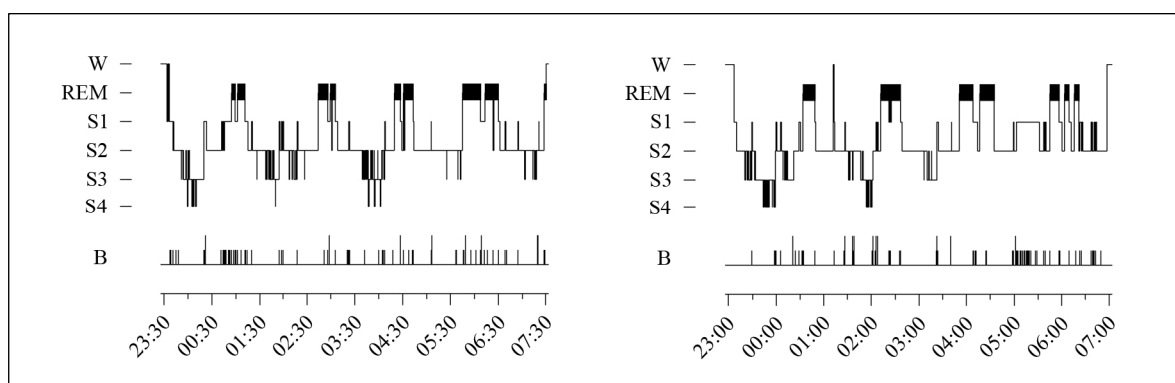


Abbildung 2. Hypnogramme mit typischem nächtlichen Schlafverlauf. Schlafprofile von zwei Probanden der vorliegenden Studie in der Placebobedingung. Der Schlaf setzt sich jeweils aus 4–5 Schlafzyklen (bestehend aus non-REM- und REM-Schlaf) zusammen, die jeweils etwa 90–120 Minuten dauern. Der SWS-Anteil (S3+S4) innerhalb der Schlafzyklen nimmt im Laufe der Nacht ab, während der REM-Anteil zunimmt. W, Wachzustand; REM, REM-Schlaf (rapid eye movement); S1–4, Schlafstadium 1–4; B, Bewegung.

1.3.2 Schlaf und Glukosemetabolismus

1.3.2.1 Insulin, Glukose und Diabetes mellitus

Untersuchungen im Schlaflabor zeigen einen deutlichen Einfluss der Schlafdauer auf den Glukosemetabolismus (104). Dabei führt eine verkürzte Schlafdauer v.a. zu einer Verminderung der Insulinsensitivität (26, 43, 113, 180) und der Glukosetoleranz (26, 113, 164). In der ersten Studie, die diese Zusammenhänge bei partieller Schlafrestriktion untersuchte, war neben der Glukosetoleranz auch die glukoseabhängige Insulinausschüttung (AIRg, acute insulin response to glucose) reduziert und die Veränderungen entsprachen Werten, wie sie bei älteren Patienten mit beeinträchtigter Glukosetoleranz bzw. Patientinnen mit Gestationsdiabetes auftreten können (164). Der ebenfalls in einigen Studien verminderte Dispositionsindex (DI; $DI = \text{Insulinsensitivität} \times \text{AIRg}$) deutet zudem ein erhöhtes Diabetes-Risiko unter den entsprechenden Bedingungen an (26, 180).

Neben der Schlafdauer hat auch die Schlafqualität Einfluss auf den Glukosestoffwechsel. In drei Querschnittsstudien mit insgesamt über 600 Teilnehmern war eine schlechtere Schlafqualität mit einer stärkeren Insulinresistenz, einer erhöhten Diabetes-Prävalenz und bei Typ-2-Diabetikern mit höheren HbA_{1c}-Werten (deren Zunahme vom Umfang her dem Effekt üblicher oraler Antidiabetika entspricht) assoziiert (zusammengefasst in 174). Außerdem zeigten fünf prospektive Studien mit insgesamt über 25 000 Teilnehmern bei Probanden mit reduzierter Schlafqualität (Einschlafschwierigkeiten, Durchschlafschwierigkeiten, Einnahme von Schlafmitteln) ein erhöhtes Diabetes-Risiko (zusammengefasst in 174). Auch eine objektivierbare Verminderung der Schlafqualität bei gleichbleibender Schlafdauer (selektive SWS-Suppression durch Induktion von Mikroarousals mithilfe akustischer Reize beim Auftreten von Deltawellen im Schlaf-EEG) ging mit einer Reduktion von Insulinsensitivität, Glukosetoleranz und DI einher. Die Abnahme der Insulinsensitivität korrelierte dabei mit der SWS-Reduktion, die wiederum etwa der altersbedingten SWS-Abnahme in 40 Lebensjahren gleichkommt, und die reduzierte Glukosetoleranz entsprach auch hier in etwa den Werten einer beeinträchtigten Glukosetoleranz älterer Patienten (173).

1.3.2.2 Glukagon

Aus Tierversuchen ist bekannt, dass das Tagesprofil von Glukagon v.a. von der zirkadianen Rhythmik und der Nahrungsaufnahme abhängt (143). Beim Menschen konnte neben einem Absinken der Glukagonspiegel während der Nacht (60, 73) eine ultradiane Oszilla-

tion der Glukagonkonzentration (Periodizität ~ 2 Stunden) gezeigt werden, die nachts synchron zu den Schlafzyklen aus non-REM-Schlaf (Anstieg der Glukagonkonzentration) und REM-Schlaf (Abfall der Glukagonkonzentration) auftritt (81). Die Bedeutung des Schlafs für die Glukagonfreisetzung zeigt sich auch bei verkürzter Schlafdauer. Diese geht sowohl mit einer Verminderung der basalen (148, 151) als auch der postprandialen Glukagonkonzentration (150) einher. Auch wenn die verminderten Glukagonkonzentrationen nicht unmittelbar zur sonst diabetogenen Wirkung der Schlafrestriktion (s. Kap. 1.3.2.1) passen, bestätigen sie die wichtige Rolle des Schlafs für den Glukosemetabolismus.

1.3.3 Schlaf und Energiehomöostase

1.3.3.1 Körpergewicht und Adipositas

Sowohl Querschnittsstudien als auch Prospektivstudien, die an mehreren tausend Probanden aus vielen industrialisierten Ländern erhoben wurden (124, 182), zeigen eine deutliche Assoziation zwischen kürzerer Schlafdauer und höherem Körpergewicht bzw. erhöhtem Adipositas-Risiko (wobei insgesamt ein U-förmiger Zusammenhang vorzuliegen scheint). Unterschiedliche Erhebungen in den USA konnten außerdem eine Verkürzung der berichteten Schlafdauer von 8–9 Stunden im Jahr 1960 (American Cancer Society) auf etwa 7 Stunden im Jahr 2008 (National Sleep Foundation) nachweisen (173, 180) und objektive Messungen der letzten Jahre ermittelten eine noch kürzere Schlafdauer von nur etwa 6 Stunden (zusammengefasst in 182). Da die Abnahme der Schlafdauer, die häufig in leistungsorientierten, modernen Gesellschaften zu beobachten ist, zeitgleich mit der weltweiten Zunahme der Zahl übergewichtiger Menschen (130) auftrat, wird eine ursächliche Rolle für die Adipositas-Epidemie industrialisierter Länder diskutiert (182).

Neben der verminderten Schlafdauer ist auch eine reduzierte subjektive Schlafqualität mit erhöhten Adipositas-Markern (Body-Mass-Index [BMI], Bauchumfang, Körperfettanteil) assoziiert (75).

1.3.3.2 Leptin und Ghrelin

Die Tagesprofile der Leptin- und Ghrelinkonzentration sind neben der Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme (37, 152) auch mit dem Schlaf-Wach-Rhythmus assoziiert (45, 159). Insofern ist es nicht überraschend, dass die Schlafdauer einen Einfluss auf die Kon-

zentration der beiden Hormone hat. Für Leptin sind die bisherigen Studienergebnisse allerdings inkonsistent. Während ältere Studien (sowohl epidemiologische Erhebungen als auch Experimente im Schlaflabor) bei verkürzter Schlafdauer eine Reduktion der Leptinspiegel zeigten (28, 53, 163, 165, 172), deuten neuere Studien eher auf einen Anstieg der Leptinspiegel hin (22, 61, 122, 125, 160, 187). Dabei beruhen die neueren Untersuchungen auf verlässlicheren Daten zur Schlafdauer und spiegeln die Alltagsgegebenheiten besser wider (61). Bezüglich Ghrelin zeigen die bisherigen Studien (sowohl epidemiologische als auch experimentelle) eindeutige Ergebnisse mit einem Anstieg der Hormonkonzentration bei reduzierter Schlafdauer (13, 149, 165, 172).

1.3.3.3 Hunger, Nahrungsaufnahme und Energieumsatz

Nach Schlafrestriktion (im Schlaflabor) wurde wiederholt eine Steigerung des Hungergefühls nachgewiesen (24, 148, 149, 165). Passend dazu scheint auch die Nahrungsaufnahme nach einer teilweisen Schlafdeprivation gesteigert zu sein, eine systematische Präferenz für den Verzehr bestimmter Makronährstoffe (Kohlenhydrate, Fette, Proteine) ließ sich dabei jedoch nicht finden (22, 24, 114, 166). Der Energieumsatz scheint von einer Verkürzung der Schlafdauer weniger stark beeinflusst zu sein (22, 114, 166), wobei eine Verminderung unter bestimmten Umständen nicht auszuschließen ist (13).

1.3.4 Schlaf und HHN-Achse

Das Tagesprofil von ACTH und Cortisol wird v.a. durch die zirkadiane Rhythmik und nur in geringem Maße durch den Schlaf-Wach-Rhythmus beeinflusst (94). Dennoch lässt sich bei partieller Schlafdeprivation ein veränderter Verlauf der Cortisolkonzentration beobachten, der u.a. mit erhöhten Hormonkonzentrationen am späten Nachmittag bzw. Abend einhergeht (93, 163, 164). Eine vergleichbare Erhöhung ist während des normalen Alterungsprozesses zu beobachten und korreliert mit der altersabhängigen Abnahme des SWS (80, 184). Bei jungen Erwachsenen führt die selektive SWS-Suppression (bei jedoch gleichbleibender Schlafdauer, s. Kap. 1.3.2.1) hingegen zu keiner Änderung der Cortisolspiegel (173). Aufgrund des zeitlichen Verlaufs der Cortisoleffekte auf den Glukosemetabolismus mit einer stark verzögert einsetzenden Reduktion der Insulinsensitivität und Glukosetoleranz (126) ist es allerdings möglich, dass die Erhöhung der nachmittäglichen bzw. abendlichen Cortisolspiegel bei partieller Schlafdeprivation (und älteren Menschen) zu einer ver-

minderten Insulinsensitivität am (darauffolgenden) Morgen (s. Kap. 1.3.2.1) zumindest beiträgt (127).

1.3.5 Schlaf und somatotrope Achse

GH, das im Glukosestoffwechsel v.a. die periphere und hepatische Insulinsensitivität senkt (103), ist in seinem Tagesprofil im Wesentlichen mit dem Schlaf-Wach-Rhythmus und nur zu einem geringen Teil mit der zirkadianen Rhythmik assoziiert (185). Bei generell niedrigen Hormonkonzentrationen treten die höchsten GH-Spiegel – auch bei Verschiebungen des Schlaf-Wach-Rhythmus – jeweils kurz nach dem Einschlafen in Form eines GH-Gipfels auf, der v.a. mit der Menge und Intensität des SWS korreliert ist (zusammengefasst in 185). Im Tagesverlauf sind weniger prominente Erhöhungen der GH-Sekretion zu beobachten, die mit zirkadianen Einflüssen und der Nahrungsaufnahme in Zusammenhang gebracht werden (71, 162). Bei partieller Schlafrestriktion (Nachtschlaf von 01.00 Uhr bis 05.00 Uhr) zeigt sich eine deutlich veränderte zeitliche Dynamik der GH-Konzentrationen mit einem ersten Gipfel gegen 23.00 Uhr (vor dem Einschlafen) und einem zweiten Gipfel gegen 1.00 Uhr (nach dem Einschlafen; 162). Dies geht mit einer längeren Dauer der im Rahmen der beiden GH-Gipfel erhöhten Hormonkonzentration einher, die – u.a. über eine Verminderung der (insulinabhängigen) Glukoseaufnahme ins Muskelgewebe (102) – zu einer verminderten Glukosetoleranz am Folgemorgen (s. Kap. 1.3.2.1) zumindest beitragen könnte.

2. Fragestellung

In den letzten 20 Jahren sind auf den Gebieten der zentralnervösen Stoffwechselregulation, der zentralen Insulinwirkung und des Schlafeinflusses auf den Metabolismus intensive Forschungsanstrengungen unternommen worden (s. Kap. 1). Dabei standen zuletzt v.a. die gegenseitigen Wechselwirkungen von Insulin und zentralnervöser Stoffwechselregulation und der Einfluss des Schlafs auf diese beiden Systeme im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses. Umgekehrte Untersuchungen zum Einfluss der zentralnervösen Insulinwirkung auf den Schlaf und damit assoziierte Veränderungen metabolischer und hormoneller Parameter sind beim Menschen hingegen bisher nicht durchgeführt worden, obwohl sie für das Verständnis der wechselseitigen Regulationsmechanismen ebenfalls von Interesse sind und die i.n. Insulingabe als gute und sichere Möglichkeit zur Untersuchung zentralnervöser Insulineffekte beim Menschen zur Verfügung steht.

Deshalb wurde in der vorliegenden Studie bei jungen, gesunden Erwachsenen (Frauen und Männern) untersucht, ob eine Verstärkung des zentralnervösen Insulinsignals durch die i.n. Applikation des Hormons Einfluss auf den Nachtschlaf, die nächtlichen Profile von Glukose und metabolisch relevanten Hormonen sowie den Energiehaushalt am Folgemorgen hat. Insbesondere sollte überprüft werden, ob die abendliche i.n. Gabe von 160 IE Humaninsulin bei den Versuchsteilnehmern

- subjektive und/oder objektive Veränderungen des Nachtschlafs bzgl. Dauer und/oder Qualität verursacht,
- sich auf die Blutkonzentrationen von Glukose, Insulin, C-Peptid, Glukagon, Leptin, Ghrelin, ACTH, Cortisol und GH während der Nacht auswirkt,
- den Ruheenergieumsatz und/oder die Nahrungsaufnahme am folgenden Morgen beeinflusst und
- ob es diesbezüglich Geschlechtsunterschiede gibt.

Vor dem Hintergrund der verfügbaren tierexperimentellen Daten und der an Probanden im Wachzustand gewonnenen Erkenntnisse ist ein Einfluss auf den Glukosemetabolismus im Sinne einer gesteigerten Insulinsensitivität und eine katabole Wirkung auf den Energiehaushalt zu erwarten. Mögliche Auswirkungen auf den Nachtschlaf, deren Stärke und Richtung aufgrund fehlender Vorbefunde nur schwer einzuschätzen sind, könnten mit weiteren metabolischen Veränderungen einhergehen.

3. Material und Methoden

3.1 Versuchspersonen

An der Studie nahmen insgesamt 32 gesunde, normalgewichtige, junge Erwachsene teil, davon 16 Frauen (Alter: $23,06 \pm 0,39$ Jahre; BMI: $22,67 \pm 0,50$ kg/m²) und 16 Männer (Alter: $24,13 \pm 0,74$ Jahre; BMI: $22,99 \pm 0,43$ kg/m²)*. Um zyklusabhängige Effekte bei den weiblichen Probanden zu minimieren, wurden nur Frauen eingeschlossen, die ein östrogenhaltiges (0,02–0,035 mg Ethinylestradiol), einphasiges orales Kontrazeptivum (sog. Mikropille, z.B. Valette® [Jenapharm], Belara® [Grünenthal]) einnahmen. Die Versuchsnächte aller Teilnehmerinnen fanden außerhalb der Menstruation statt und wurden frühestens am fünften Tag nach Beginn der Kontrazeptiva-Einnahme durchgeführt, um möglichst stabile Geschlechtshormonspiegel zu gewährleisten. Damit bei den Frauen mit vierwöchigem Einnahmeschema des Kontrazeptivums die Teilnahme zu korrespondierenden Zykluszeitpunkten und damit unter vergleichbaren Bedingungen stattfand, lagen die beiden Versuchsnächte für alle Probanden (Frauen und Männer) in vierwöchigem Abstand (Frauen: $27,56 \pm 0,26$ Tage; Männer: $28,69 \pm 0,50$ Tage).

Zum Ausschluss akuter und chronischer Erkrankungen wurden eine Anamnese, eine körperliche Untersuchung und eine Nüchtern-Blutentnahme (kleines Blutbild, Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Glukose, Kreatinin, Harnsäure, Gesamt-Bilirubin, AST, ALT, AP, TSH) durchgeführt. Alle Probanden waren Nichtraucher und hatten einen regelmäßigen Schlaf-Wach-Rhythmus. Keiner der Probanden nahm regelmäßig Medikamente (außer der Kontrazeptiva) ein. Allergien (inkl. Rhinitis allergica) wurden toleriert, sofern die Probanden zum Zeitpunkt der Versuche beschwerdefrei waren und keine Medikamente einnahmen. Eine diabetogene Stoffwechsellage wurde bei allen Teilnehmern durch einen unauffälligen Nüchtern-Blutzuckerwert ($< 5,56$ mmol/l [100 mg/dl]) ausgeschlossen und keiner der Probanden hatte Verwandte 1. Grades mit einem bekannten DM Typ 1 oder 2. Vegetarier waren wegen des fleischhaltigen Frühstücksbuffets von der Studienteilnahme ausgeschlossen.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität zu Lübeck am 05.02.2009 genehmigt (Aktenzeichen: 08-229). Alle Versuchsteilnehmer gaben vor Studienbeginn ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme. Nach Abschluss der Studie erhielten die Probanden eine Aufwandsentschädigung von bis zu 180,– €.

* Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung der männlichen und weiblichen Sprachform verzichtet. Sofern aus dem Zusammenhang nichts anderes ersichtlich ist, sind jeweils beide Geschlechter gemeint.

3.2 Versuchsaufbau

Die Studie war als Innersubjektvergleich angelegt, sodass alle Probanden an zwei Versuchsbedingungen (Insulin, Placebo) teilnahmen. Die Abfolge der Bedingungen war zufällig und über alle Teilnehmer (Gesamtgruppe) und innerhalb der Untergruppen der Frauen und Männer ausgeglichen. Die Durchführung der Studie erfolgte doppelblind.

Jede Versuchssitzung dauerte von 20.00 Uhr am Tag der Versuchsnacht (VN) bis etwa 19.00 Uhr des Folgetages (s. Abb. 3, S. 26). Zwischen 09.00 Uhr und 18.00 Uhr am Folgetag konnten die Probanden das Schlaflabor verlassen und ihren normalen Alltagstätigkeiten nachgehen. Tagesschlaf, Extremsport und intensives Lernen war den Probanden in dieser Zeit untersagt, außerdem wurden die Versuchstermine so geplant, dass die Probanden an diesem Tag keinen emotional belastenden Situationen (z.B. Prüfungen) ausgesetzt waren. Während der beiden Tage einer Versuchssitzung (Tag der VN und Folgetag) mussten die Probanden auf koffein- und alkoholhaltige Getränke verzichten. Vor der VN sollten die Probanden gegen 18.00 Uhr ein leichtes Abendbrot entsprechend 2–3 belegten Broten einnehmen. Während der Zeit außerhalb des Schlaflabors (am Folgetag) konnten die Versuchsteilnehmer normale Mahlzeiten zu sich nehmen, zuletzt jedoch gegen 15.00 Uhr. Ein Dokumentationsbogen (für Mahlzeiten und besondere Vorkommnisse) wurde den Probanden mitgegeben, um die Einhaltung der Anweisungen zu kontrollieren. Alle Probanden, die innerhalb der letzten 6 Monate vor der ersten VN nicht in einem Schlaflabor geschlafen hatten, mussten eine Eingewöhnungsnacht absolvieren, um sich an die Bedingungen im Schlaflabor (Räumlichkeiten, EEG-, EOG-, EMG-Elektroden) zu gewöhnen.

Am Tag der VN kamen die Probanden um 20.00 Uhr ins Schlaflabor. Für wiederholte Blutentnahmen wurde zunächst ein peripherer Venenkatheter (PVK) als i.v. Zugang am Arm der dominanten Seite angelegt. Eine langsame Infusion isotoner Kochsalzlösung (NaCl; Natriumchlorid-Infusionslösung 154, Berlin-Chemie, Pfullingen, Deutschland; maximal 1600 ml/VN $\approx$ 120 ml/Stunde) über ein handelsübliches Infusionssystem (Infusionsleitung 15 μ m Filter, Alaris[®] Products, CareFusion Corporation, San Diego, Kalifornien, USA) mit 3-Wege-Hahn gewährleistete dessen Durchgängigkeit. Zur Vorbereitung auf die polysomnographische Schlafregistrierung wurden außerdem die EEG-, EOG- und EMG-Elektroden platziert.

Die Versuche begannen um 21.15 Uhr mit einer Serie aus mehreren Befindlichkeits- (EWL-K, MDBF-A, SSS, VAS) und Gedächtnistests. Hieran schloss sich um 22.15 Uhr die i.n. Substanzgabe (Insulin bzw. Placebo) über einen Zeitraum von 16 Minuten an. Um

22.35 Uhr wurden nochmals einige der Befindlichkeitstests (MDBF-A, SSS, VAS) durchgeführt, bevor die Probanden für die nächtliche Bettruhe vorbereitet wurden. Nach Anschluss an die polysomnographische Schlafregistrierung und Installation des nächtlichen Blutentnahmesystems wurde um 23.00 Uhr das Licht ausgeschaltet, sodass die Probanden während der gesamten Nacht ungestört schlafen konnten.

Um 07.00 Uhr am Folgetag wurden die Versuchsteilnehmer geweckt. Ohne dass die Probanden aufstanden, erfolgte ab 07.10 Uhr über einen Zeitraum von 30 Minuten die Messung des Ruheenergieumsatzes mithilfe der indirekten Kalorimetrie. Nach der sich anschließenden Bestimmung des aktuellen Körpergewichts und einer Bioimpedanzanalyse (BIA) wurden um 08.05 Uhr erneut einige Befindlichkeitstests (EWL-K, MDBF-A, SSS, SF-A-R, VAS) erhoben. Von 08.15 Uhr bis 08.45 Uhr durften die Versuchsteilnehmer dann nach Belieben von einem standardisierten Frühstücksbuffet essen (Untersuchung der Nahrungsaufnahme). Danach wurden die Elektroden und der PVK entfernt und die Probanden konnten das Schlaflabor um etwa 09.00 Uhr verlassen.

Um 18.00 Uhr trafen die Versuchsteilnehmer wieder im Schlaflabor ein. Neben den Befindlichkeitstests (EWL-K, MDBF-A, SSS, VAS) wurden nochmals mehrere Gedächtnistests durchgeführt. Um etwa 19.00 Uhr war die Versuchssitzung beendet.

Während des gesamten Versuchsablaufs wurde über den PVK Blut abgenommen. Um 21.10 Uhr (vor Versuchsbeginn) und 22.10 Uhr (vor Substanzgabe) wurden die beiden Grundlinienwerte erhoben. Es folgten Blutentnahmen um 22.31 Uhr (unmittelbar nach Substanzgabe) und um 22.59 Uhr (unmittelbar vor dem Ausschalten des Lichts). Während der Nacht wurde zunächst (von 23.00 Uhr bis 02.00 Uhr) alle 20 Minuten und dann (von 02.00 Uhr bis 06.40 Uhr) alle 40 Minuten Blut abgenommen, zuletzt um 07.00 Uhr (unmittelbar nach dem Wecken der Probanden). Am Morgen erfolgten Blutentnahmen um 07.55 Uhr (nach der BIA) und um 08.45 Uhr (nach dem standardisierten Frühstücksbuffet). Am Abend um 18.00 Uhr (nach dem Wiedereintreffen im Schlaflabor) wurde mit einer Einmalkanüle (BD Valu-Set, 21G, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) die letzte Blutentnahme durchgeführt.

Herzfrequenz- und Blutdruckbestimmungen erfolgten durch oszillatorische Messung (boso-medicus prestige, Bosch+ Sohn GmbH & Co. KG, Jungingen, Deutschland) am Oberarm der Probanden um 21.10 Uhr (vor Versuchsbeginn), um 22.35 Uhr (nach Substanzgabe), um 07.00 Uhr (unmittelbar nach dem Wecken) und um 07.55 Uhr (nach der BIA).

Die Gedächtnistests wurden zur Erfassung kognitiver Parameter erhoben und werden in einer separaten Dissertation zur Untersuchung kognitiver Insulineffekte im Zusammenhang mit dem Nachtschlaf ausgewertet.

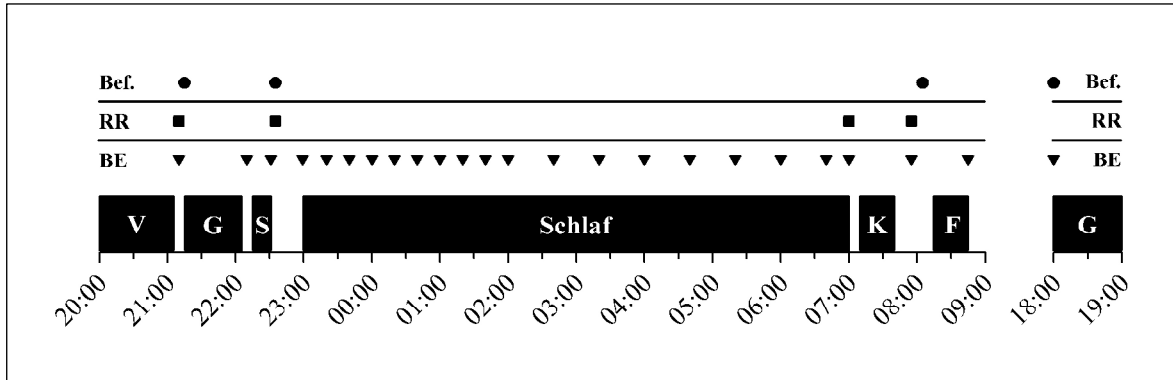


Abbildung 3. Versuchsablauf. Jeder Proband (16 Frauen, 16 Männer) absolvierte in etwa vierwöchigem Abstand und zufälliger Reihenfolge zwei Versuchsbedingungen (Insulin, Placebo). Die Probanden kamen jeweils um 20.00 Uhr ins Schlaflabor. Nach einigen Vorbereitungen (V), die die Anlage eines i.v. Zugangs und der EEG-, EOG- und EMG-Elektroden umfassten, wurden mehrere Gedächtnistests (G) durchgeführt, die im Rahmen einer separaten Dissertation ausgewertet werden. Im Anschluss erfolgte die i.n. Substanzgabe (S; Insulin bzw. Placebo). Von 23.00 Uhr bis 07.00 Uhr konnten die Probanden ungestört im Schlaflabor schlafen. Unmittelbar nach dem Wecken wurde eine indirekte Kalorimetrie (K; Untersuchung des Ruheenergieumsatzes) durchgeführt und die Probanden aßen nach Belieben von einem standardisierten Frühstücksbuffet (F; Untersuchung der Nahrungsaufnahme). Ab etwa 09.00 Uhr konnten die Probanden das Schlaflabor verlassen und ihren Alltagstätigkeiten nachgehen. Von 18.00 Uhr bis etwa 19.00 Uhr wurden weitere Gedächtnistests (G) durchgeführt. Während des gesamten Versuchsablaufs erfolgten Blutentnahmen zur BZ- und Hormonbestimmung (BE), Messungen von Blutdruck und Puls (RR) und Erhebungen der Befindlichkeit (Bef.) der Probanden. Die Versuchsdurchführung erfolgte doppelblind.

3.3 Insulin-Nasenspray

Die verwendete Insulin-Lösung zur i.n. Applikation bestand aus dem Inhalt einer Ampulle Actrapid® Penfill® (3 ml Injektionslösung mit 100 IE/ml Insulin human; weitere Bestandteile: Zinkchlorid, Glycerol, m-Kresol, Natriumhydroxid, Salzsäure, Wasser für Injektionszwecke; Novo Nordisk Pharma GmbH, Mainz, Deutschland). Als Placebo-Lösung dienten 3 ml einer Insulin-Verdünnungslösung, die der Trägersubstanz des verwendeten Insulin-Präparates weitgehend entspricht (1 ml Lösung enthält: 2,7 mg m-Kresol, 16 mg Glycerol, Wasser für Injektionszwecke; Apotheke des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein [UKSH], Ratzeburger Allee 160, 23538 Lübeck, Deutschland).

Zur Applikation wurde eine handelsübliche Nasensprayflasche (10 ml, braunes Glas, Schraubverschluss) mit einer nasalen Zerstäuberpumpe (Aero Pump GmbH, Hochheim, Deutschland) kombiniert. Mit diesem System wird pro Sprühstoß 0,1 ml der enthaltenen

Lösung (entsprechend 10 IE Humaninsulin oder Placebo) vernebelt. Über einen Zeitraum von insgesamt 16 Minuten (von 22.15 Uhr bis 22.31 Uhr) wurde ein Sprühstoß pro Minute abwechselnd in jedes Nasenloch verabreicht, resultierend in 8 Sprühstößen (0,8 ml) pro Nasenloch und 16 Sprühstößen (1,6 ml) insgesamt, entsprechend 160 IE Humaninsulin oder Placebo. Diese Dosis hat sich in bisherigen Studien als sicher und wirksam zur Auslösung zentralnervöser Insulineffekte beim Menschen erwiesen (s. Kap. 1.2.1.2).

3.4 Schlaf

3.4.1 Polysomnographische Schlafregistrierung

Zur objektiven Bewertung der Schlafqualität wurde während der Nacht eine polysomnographische Schlafregistrierung durchgeführt, anhand derer die Schlafarchitektur beurteilt werden kann. Hierfür erfolgte die gleichzeitige Ableitung eines Elektroenzephalogramms (EEG), eines Elektrookulogramms (EOG) und eines Elektromyogramms (EMG). Die EEG-Ableitung zur Registrierung der Gehirnaktivität erfolgte bei einer Abtastrate von 200 Hz mit Silber-Silberchlorid-Elektroden. Die Signale wurden verstärkt (BrainVision BrainAmp DC, Brain Products GmbH, München, Deutschland), mithilfe eines Hoch- (0,16 Hz) und Tiefpassfilters (70 Hz) von entsprechenden Artefakten befreit und für eine Computer-basierte Aufzeichnung digitalisiert. Die Platzierung der EEG-Elektroden erfolgte gemäß dem internationalen 10-20-System an den Positionen F3, F4, C3, C4, P3, P4. Zur Ableitung der Augenbewegungen wurden zwei EOG-Elektroden verwendet, die beidseits lateral des temporalen Lidspaltenwinkels (leicht nach oben bzw. unten versetzt) platziert waren. Zur Registrierung des Muskeltonus wurde beidseits je eine EMG-Elektrode seitlich am Kinn befestigt. Eine am lateralen Nasenflügel fixierte Elektrode diente als Referenz für die EEG-Ableitungen, die EOG- und EMG-Elektroden wurden jeweils gegeneinander abgeleitet. Zur Erdung wurde eine in der Mitte der Stirn platzierte Elektrode verwendet.

Vor dem Anbringen der Elektroden wurden die entsprechenden Hautareale zunächst mit einer alkoholhaltigen Desinfektionslösung (Cutasept® F, BODE Chemie GmbH, Hamburg, Deutschland) gereinigt und entfettet und mit einer Peelingcreme (Everi, Spes medica, Battipaglia, Italien) aufgeraut und von Hautschuppen befreit. Auf der Kopfhaut wurden die Elektroden dann mit einer leitenden, adhäsiven Elektrodenpaste (EC2® Genuine Grass Electrode Cream, Astro-Med GmbH, Rodgau, Deutschland), auf der Gesichtshaut mit einer leitenden Elektrodencreme (Synapse Conductive Electrode Cream, Med-Tek/Synapse,

Arcadia, Kalifornien, USA) und doppelseitig haftenden Kleberingen (EKG-Kleberinge 20×8 mm, Hellige, GE Medical Systems Deutschland GmbH & Co. KG, Deutschland) befestigt. Eine zusätzliche Fixierung mit Pflasterstreifen verhinderte das versehentliche Abstreifen der Elektroden im Schlaf und eine abschließende Impedanzanalyse (2 Electrodes Impedance Meter, Temec Instruments B.V., Kerkrade, Niederlande) stellte einen ausreichend niedrigen Widerstand ($\leq 5 \text{ k}\Omega$) für die Registrierung der Signale sicher.

Die Bestimmung der Schlafstadien fand im Nachhinein („offline“) entsprechend der Standardkriterien von Rechtschaffen und Kales (134) statt. Die Auswertung umfasste für jede Nacht die Bestimmung der Schlafdauer (Zeit zwischen Einschlafen und Aufwachen), der Zeit, die die Probanden im Wachzustand (W) und in den verschiedenen Schlafstadien (S1, S2, S3, S4, SWS, REM) verbrachten (absolut und relativ in Bezug auf die Schlafdauer) und der Bewegungen im Schlaf. Außerdem wurden die SWS-Latenz und die REM-Latenz in Bezug auf den Einschlafzeitpunkt bestimmt.

3.4.2 Schlafragebogen A – revidierte Fassung

Zur subjektiven Bewertung der Schlafqualität mussten die Probanden den Schlafragebogen A in seiner revidierten Fassung (SF-A-R) am Morgen nach der jeweiligen VN (um 08.05 Uhr, d.h. 65 Minuten nach dem Wecken) ausfüllen. Mit seiner Hilfe werden sowohl unterschiedliche Aspekte des Schlafs selber als auch die Befindlichkeit der Probanden vor und nach der betreffenden Nacht abgefragt. Ausgewertet wurden lediglich die Fragen, die Auskunft über die generelle Schlafqualität geben (Zeit bis zum Einschlafen, nächtliches Erwachen, Träume, morgendliche Kopfschmerzen, subjektive Schlafqualität, Befindlichkeit vor dem Schlafengehen, Befindlichkeit am Morgen).

3.5 Blutglukose- und Hormonkonzentrationen

3.5.1 Blutentnahme, Glukosebestimmung, Aufbereitung der Proben

Die Blutentnahmen erfolgten aus einer oberflächlichen Armvene über einen PVK (BD Venflon™ Pro, 18GA bzw. 20GA, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) mit 3-Wege-Hahn (Discofix® 3SC, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Während der Nacht ermöglichte ein Verlängerungsschlauch (Combidyn Druckschlauch $1,0 \times 2,0$ mm, 200 cm, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland), der zwischen

PVK und 3-Wege-Hahn montiert und durch eine schallisolierte Öffnung in der Wand geführt wurde, den Probanden vom Nebenraum aus Blut abzunehmen, ohne sie aufzuwecken.

Bei jeder Blutentnahme wurden die ersten 3 bzw. 6 ml (ohne bzw. mit Verlängerungsschlauch) des NaCl-Blut-Gemisches verworfen, um dann mit einer Einmalspritze (BD Discardit II, 10 ml, Becton Dickinson GmbH, Heidelberg, Deutschland) 8 ml Blut für die Analysen zu gewinnen. Im Anschluss wurde der Zugang mit etwa 5 ml NaCl-Lösung aus dem Infusionssystem gespült. Zu vier nächtlichen Entnahmezeitpunkten (23.40 Uhr, 00.20 Uhr, 01.00 Uhr, 01.40 Uhr) wurden lediglich 5 ml Blut entnommen. Die insgesamt abgenommene Blutmenge belief sich pro Versuchssitzung auf etwa 240 ml.

Einige Tropfen des jeweils entnommenen Blutes wurden sofort für die Bestimmung der Glukosekonzentration mit einem POCT (point of care testing)-Gerät (HemoCue® Glucose 201 Analyzer inkl. HemoCue® Glucose 201 Microcuvettes, HemoCue AB, Ängelholm, Schweden) verwendet. Die Messung erfolgte photometrisch bei zwei Wellenlängen aus hämolysiertem Vollblut nach einer modifizierten Glukose-Dehydrogenase-Methode (5). Es konnte gezeigt werden, dass die Messung mithilfe dieses Systems im Vergleich zu der aufwändigeren Messung mithilfe der Glukose-Oxidase-Methode (Standardmethode für sofortige Glukosebestimmung) sehr gut übereinstimmende Werte liefert (170). Vor jeder Versuchssitzung wurde mit einer Kontrolllösung (Glucotrol-NG, Eurotrol B.V., Ede, Niederlande) die einwandfreie Funktion des verwendeten Systems sichergestellt. Die vom Hersteller angegebenen Werte der Präzision betragen für den Intraassay-Variationskoeffizienten (VK) $\leq 3,5\%$ und für den Interassay-VK $\leq 2,7\%$.

Der Großteil des jeweils entnommenen Blutes wurde zur Aufbereitung für die Hormonbestimmungen in eine ungekühlte Serum-Monovette (2 ml zur Bestimmung von Insulin, C-Peptid, Cortisol, Leptin und GH; S-Monovette® 2,6 ml Serum-Gel, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) und zwei gekühlte EDTA-Plasma-Monovetten (1,6 ml zur Bestimmung von ACTH und Ghrelin; 1,1 ml zur Bestimmung von Glukagon; S-Monovette® 2,7 ml Kalium-EDTA, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) überführt. In die Monovetten für die Glukagon-Bestimmung waren bereits vor der Versuchssitzung jeweils 1000 KIU (Kallikrein Inhibiting Units) des Protease-Inhibitors Aprotinin (100 µl Trasylol® 1,0, Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Deutschland) zur Stabilisierung des Hormons vorgelegt worden. Darüber hinaus waren 2,7 ml Blut für die Bestimmung von Katecholaminen vorgesehen, auf die letztlich jedoch verzichtet wurde. Die Proben wurden etwa 20 Minuten bei Raumtemperatur (Serum-Monovette) bzw. gekühlt (EDTA-Plasma-Monovetten) aufbewahrt bevor sie bei 4°C und 4000 Umdrehungen/Minute für 10 Minuten zentrifugiert

wurden. Der Überstand wurde in 1,5 ml Reaktionsgefäße (Reagiergefäß 1,5 ml, Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Deutschland) pipettiert und eingefroren. Bis zur Bestimmung der Hormone durch das Labor des Instituts für Neuroendokrinologie (Universität zu Lübeck) wurden die Proben bei -80°C aufbewahrt.

3.5.2 Hormonbestimmung

Die Bestimmung von Insulin (Nachweisgrenze 14,43 pmol/l, Intraassay-VK $\leq 6,4\%$, Gesamt-VK $\leq 8,0\%$), C-Peptid (Nachweisgrenze 16,55 pmol/l, Intraassay-VK $\leq 3,3\%$, Gesamt-VK $\leq 5,5\%$), Cortisol (Nachweisgrenze 5,52 nmol/l, Intraassay-VK $\leq 8,8\%$, Gesamt-VK $\leq 10,0\%$), GH (Nachweisgrenze 0,01 $\mu\text{g/l}$, Intraassay-VK $\leq 6,5\%$, Interassay-VK $\leq 6,2\%$) und ACTH (Nachweisgrenze 0,44 pmol/l [in Rücksprache mit dem Hersteller von 1,98 pmol/l herabgesetzt], Intraassay-VK $\leq 9,6\%$, Interassay-VK $\leq 9,4\%$) fand chemilumineszenz-immunometrisch mit entsprechenden Immulite®-Testkits auf einem Immulite® 1000 System (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland) statt. Die Bestimmung von Leptin (Nachweisgrenze 0,5 ng/ml, Intraassay-VK $\leq 8,3\%$, Interassay-VK $\leq 6,2\%$), Ghrelin (Nachweisgrenze 93 pg/ml, Intraassay-VK $\leq 10,0\%$, Interassay-VK $\leq 17,8\%$) und Glukagon (Nachweisgrenze 10,46 ng/l, Intraassay-VK $\leq 4,8\%$, Gesamt-VK $\leq 8,9\%$) wurde radio-immunometrisch mit entsprechenden Radioimmunoassay-Kits (Millipore Corporation, Billerica, Massachusetts, USA [Leptin, Ghrelin] bzw. IBL International GmbH, Hamburg, Deutschland [Glukagon]) durchgeführt.

3.6 Energiehaushalt

3.6.1 Indirekte Kalorimetrie

Mithilfe der indirekten Kalorimetrie ist die Messung des Energieumsatzes eines Organismus möglich. Hierzu werden O_2 -Aufnahme und CO_2 -Abgabe in einem bestimmten Zeitraum registriert. Über den respiratorischen Quotienten (RQ) und das kalorische Äquivalent kann dann der Energieumsatz berechnet werden. Der Gesamtenergieumsatz des Menschen setzt sich aus dem Ruheenergieumsatz ($\sim 60\%$), dem nahrungsassoziierten Energieumsatz (nahrungsinduzierte Thermogenese; $\sim 10-15\%$) und dem aktivitätsabhängigen Energieumsatz ($\sim 25-30\%$) zusammen (95). Die morgendliche Messung nach 12-stündiger Nüchternheit und in körperlicher Ruhe ermöglicht die Bestimmung des Ruheenergieumsatzes.

Das im Rahmen der vorliegenden Studie verwendete System (DeltatracTM II Metabolic Monitor, Datex-Ohmeda, GE Medical Systems Deutschland GmbH & Co. KG, Solingen, Deutschland) registriert die ein- und ausgeatmeten O₂- und CO₂-Volumina mithilfe eines kontrolliert belüfteten, halbkugelförmigen Haubensystems, das über dem Kopf des Probanden liegt. Das Gerät wurde etwa 40 Minuten vor der Benutzung (06.30 Uhr) eingeschaltet, um die vorgeschriebene, mindestens 30-minütige Aufwärmphase bis zur Messung (07.10 Uhr) zu gewährleisten. Unmittelbar vor Messbeginn erfolgte die Kalibration des Systems mit Quick CaleTM Kalibriergas (Kalibriergasgemisch für DelatracTM Metabolik-Monitore, GE Healthcare Finland Oy, Helsinki, Finnland) auf einen O₂-Wert von 95 % und einen CO₂-Wert von 5 %. Während dieser Zeit wurde den im Bett liegenden Probanden der genaue Ablauf der Untersuchung erklärt. Insbesondere bekamen sie die Anweisung, dass sie während der Messung ruhig liegen und möglichst gleichmäßig atmen sollten. Außerdem sollten sie die Augen geöffnet lassen, um sicherzustellen, dass sie während der Messung nicht einschliefen. Nach Abschluss der Kalibration wurde die durchsichtige Haube über den Kopf der auf dem Rücken liegenden Probanden gelegt, gegenüber der Umgebung abgedichtet und die Messung gestartet. Die Einhaltung der Verhaltensvorgaben während der folgenden 30-minütigen Messung wurde regelmäßig kontrolliert. Die Messwertbestimmung erfolgte in einminütigen Intervallen. Die ersten 10 Minuten der Messung galten der Habituation an die Untersuchungssituation, aus den Messwerten der 11. bis 30. Minute wurde der Ruheenergieumsatz der Probanden (durch Mittelwertbildung) bestimmt.

3.6.2 Standardisiertes Frühstücksbuffet

Das standardisierte Frühstücksbuffet (im Folgenden auch als „Testfrühstück“ bezeichnet) diente dazu, die Nahrungsaufnahme und damit die Energieaufnahme der Probanden zu untersuchen. Es bestand aus einer vielfältigen und reichhaltigen Zusammenstellung verschiedener Nahrungsmittel aus der Klinikküche des UKSH in Lübeck, die üblicherweise zum Frühstück verzehrt werden (s. Tab. 1, S. 32). Die insgesamt dargebotene Energiemenge belief sich auf etwa 5000 kcal und war zu ~52 % in Kohlenhydraten, zu ~37 % in Fetten und zu ~11 % in Proteinen enthalten.

Das gesamte Frühstück wurde allen Probanden in gleicher Weise auf einem Tisch ausgebreitet angeboten. Ihnen wurde erklärt, dass sie in aller Ruhe und nach Belieben für insgesamt 30 Minuten (von 08.15 Uhr bis zur letzten Blutentnahme am Morgen um 08.45 Uhr) davon essen könnten. Um Überessen (für den restlichen Tag) zu vermeiden,

durften die Versuchsteilnehmer die nicht verzehrten Lebensmittel später mit nach Hause nehmen. Hierauf wurden sie vor Beginn des Frühstücks ausdrücklich hingewiesen.

Alle angebotenen Lebensmittel wurden vor und nach dem Frühstück gewogen. Anhand der Gewichts differenzen wurde die verzehrte Nahrungsmenge bestimmt, die wiederum die Energieaufnahme – aufgeteilt nach Makronährstoffen – widerspiegelte. Über die Feststellung der Verzehrmenge und die Tatsache, dass das Frühstücksbuffet als Teil der Studie der Untersuchung der Nahrungsaufnahme diente, wurden die Probanden in Unwissenheit gelassen.

Tabelle 1. Standardisiertes Frühstücksbuffet.

Lebensmittel			Nährstoffgehalt			Energiegehalt
Bezeichnung	Abpackung	Menge (g)	KH (g)	F (g)	P (g)	(kcal)
Früchtetee	1 Thermoskanne	750	0,00	0,00	0,00	0,00
Zucker	6 Beutel	24	23,95	0,00	0,00	101,31
Milch	3 Packungen	750	36,00	26,25	24,75	499,26
Kakaopulver	Großpackung	55 ^a	44,50	1,54	2,15	211,50
Erdbeermilch	1 Packung	200	18,20	6,80	7,40	171,05
Orangensaft	2 Packungen	400	36,00	1,00	4,00	178,43
Helle Brötchen	5 Stück	300	153,00	4,20	7,81	719,00
Mischbrot	3 Scheiben	165	70,95	2,30	12,00	372,11
Weißbrot	1 Scheibe	30	14,55	0,40	2,23	74,67
Butter	7 Päckchen	105	0,63	87,36	0,70	811,97
Konfitüre	2 Päckchen	50	35,80	0,08	0,03	152,30
Honig	2 Päckchen	40	30,00	0,00	0,14	127,49
Nuss-Nougat-Creme	2 Päckchen	40	29,70	0,32	3,20	142,12
Frischkäse	2 Schälchen	34	0,64	7,96	3,06	89,16
Kräuter-Frischkäse	2 Schälchen	40	1,00	11,60	3,20	124,83
Schnittkäse	5 Scheiben	100	0,00	29,20	25,50	377,38
Salami	2 Scheiben	34	0,07	10,20	6,12	120,34
Mortadella	2 Scheiben	40	0,13	4,30	8,26	75,16
Cornflakes	Großpackung	30 ^a	25,80	0,48	2,22	122,96
Vanillepudding	1 Becher	125	20,75	3,75	3,50	137,19
Fruchtquark	1 Becher	150	23,10	3,90	9,20	172,63
Obst, z.B. Apfel	1 Stück ^b	~ 150	17,10	0,90	0,45	82,54
Obst, z.B. Banane	1 Stück ^b	~ 150	32,10	0,30	1,65	145,53
Summe (g):			613,96	202,84	127,57	
Summe (kcal):			2597,05	1872,25	539,64	5008,94

Zusammensetzung und Energiegehalt des standardisierten Frühstücksbuffets. KH, Kohlenhydrate; F, Fette; P, Proteine. Zur Umrechnung des Energiegehalts in kJ mit 4,1868 multiplizieren. ^a Menge unbegrenzt (Großpackung), Angabe an maximaler Verzehrmenge der Probanden orientiert; ^b insgesamt 2 Stücke Obst (Apfel, Banane, Birne, Nektarine, Mandarine).

3.7 Befindlichkeit

3.7.1 Eigenschaftswörterliste – Kurzversion

Die von Janke und Debus (72) vorgestellte Eigenschaftswörterliste (EWL) ist ein Instrument zur Erfassung der aktuellen Befindlichkeit anhand einer Selbsteinschätzung. Sie basiert auf einer Liste von Eigenschaftswörtern. Die Versuchsteilnehmer mussten für jedes Eigenschaftswort angeben, ob dieses ihren aktuellen Befindlichkeitszustand zutreffend beschreibt oder nicht (Antwortmöglichkeiten: *trifft zu* oder *trifft nicht zu*). Die im Rahmen dieser Studie verwendete EWL-K (Kurzversion der EWL) testet insgesamt 14 Befindlichkeitsaspekte (Aktiviertheit; Desaktiviertheit, Müdigkeit, Benommenheit; Extravertiertheit, Introvertiertheit; Selbstsicherheit, gehobene Stimmung; Erregtheit, Empfindlichkeit, Ärger; Ängstlichkeit, Deprimiertheit, Verträumtheit), die sich zu 6 übergeordneten Bereichen (leistungsbezogene Aktivität; allgemeine Desaktivität; Extraversion/Introversion; allgemeines Wohlbefinden; emotionale Gereiztheit; Angst) zusammenfassen lassen. Jeder Befindlichkeitsaspekt wird mit 4–16 Eigenschaftswörtern abgefragt, sodass die Liste insgesamt 123 zu beurteilende Eigenschaftswörter umfasst. Die Bearbeitung dauert etwa 10 Minuten. Die Anzahl der *trifft zu*-Antworten der einzelnen Kategorien beschreibt quantitativ die Befindlichkeit in der jeweiligen Dimension (mehrdimensionales Testverfahren). Die Auswertung erfolgte nur für die in dem jeweiligen Zusammenhang relevanten Dimensionen, auf die an entsprechender Stelle hingewiesen wird.

3.7.2 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen – Kurzform A

Der von Steyer und Mitarbeitern (168) entwickelte Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF) ist ein Instrument zur Erfassung der Befindlichkeit anhand einer Selbsteinschätzung. Er basiert auf einer Liste von Adjektiven. Die Versuchsteilnehmer mussten für jedes Adjektiv auf einer 5-stufigen Skala bewerten, wie zutreffend dieses ihren momentanen Gefühlszustand beschreibt (Endpunkte der Skala: 1 – *überhaupt nicht* bis 5 – *sehr*). Der im Rahmen dieser Studie verwendete MDBF-A (Kurzversion A des MDBF) testet drei bipolare Dimensionen (gute/schlechte Stimmung; Wachheit/Müdigkeit; Ruhe/Unruhe) mit jeweils vier zu beurteilenden Adjektiven (zufrieden, schlecht, gut, unwohl; ausgeruht, schlapp, müde, munter; ruhelos, gelassen, unruhig, entspannt). Die Bearbeitung dauert etwa 2 Minuten. Aus den (durch die Versuchsteilnehmer) markierten Skalen-Stufen der zu

einer Dimension gehörenden vier Adjektive ergibt sich ein Punktwert zwischen 4 und 20 für die jeweilige Dimension. Dabei stehen hohe Werte (> 12) für unterschiedlich stark ausgeprägte gute Stimmung bzw. Wachheit bzw. Ruhe, während niedrige Werte (< 12) unterschiedlich stark ausgeprägte schlechte Stimmung bzw. Müdigkeit bzw. Unruhe anzeigen. Die Auswertung erfolgte nur für die in dem jeweiligen Zusammenhang relevanten Dimensionen, auf die an entsprechender Stelle hingewiesen wird.

3.7.3 Visuelle Analogskala

Die visuelle Analogskala (VAS) ist ein einfaches und bewährtes Instrument, um die Ausprägung eines bestimmten Parameters durch Selbst- oder Fremdeinschätzung zu erfassen. Sie basiert auf einer Linie, deren Endpunkte die Extremzustände der untersuchten Dimension wiedergeben und auf der die bearbeitende Person ihre Einschätzung anhand einer Markierung relativ zu den Extremen angibt. In der vorliegenden Studie wurde ein Fragebogen mit vier visuellen Analogskalen für die Abfrage der Befindlichkeitsaspekte Hunger, Durst, Müdigkeit und generelles Wohlbefinden verwendet. Die Versuchsteilnehmer sollten in Form einer Selbsteinschätzung ihr Empfinden bzgl. der abgefragten Aspekte (*Wie hungrig sind Sie gerade? Wie durstig sind Sie im Moment? Wie müde fühlen Sie sich jetzt? Wie ist Ihr generelles Wohlbefinden?*) durch eine entsprechende Markierung auf einer 8 cm langen Linie zwischen den beiden Extremen (*überhaupt nicht – sehr hungrig; überhaupt nicht – sehr durstig; überhaupt nicht – kurz vor dem Einschlafen; sehr schlecht – sehr gut*) angeben. Die Bearbeitung dauert wenige Sekunden. Die Auswertung erfolgt durch Quantifizierung der Markierungen in Prozentwerten.

3.7.4 Stanford Schläfrigkeits-Skala

Die von Hoddes und Mitarbeitern (65) vorgestellte Stanford Schläfrigkeits-Skala (SSS, Stanford Sleepiness Scale) ist ein Instrument zur Erfassung der Schläfrigkeit anhand einer Selbsteinschätzung. Es handelt sich um einen Fragebogen, auf dem die Versuchsteilnehmer ihren momentanen Schläfrigkeitszustand einer am besten passenden, genau beschriebenen Kategorie einer 7-stufigen Skala (Endpunkte der Skala: 1 – *aktiv und munter, aufmerksam, hellwach* bis 7 – *fast schon träumend, kurz vor Schlafbeginn, Ringen um das Wachbleiben verloren*) zuordnen mussten. Die Bearbeitung dauert wenige Sekunden. Der Punktwert (entspricht den Skalen-Stufen 1 bis 7) gibt Auskunft über das Ausmaß der Schläfrigkeit.

3.8 Datenaufbereitung und Statistik

Für die statistischen Analysen wurden PASW Statistics 18 (SPSS Inc., IBM, Armonk, New York, USA) und Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) verwendet, die Grafiken wurden mit SigmaPlot 10 (Systat Software, Inc., Chicago, Illinois, USA) erstellt.

Die Auswertung der Daten erfolgte grundsätzlich durch Varianzanalysen für Messwiederholungen. Für die Blutwerte (Glukose, Hormone) und die Daten aus dem Frühstücksbuffet wurden zweifaktorielle Varianzanalysen mit den Innersubjektfaktoren „Behandlung“ und „Zeit“ bzw. „Behandlung“ und „Makronährstoff/Makronährstoffanteil“ verwendet. Zeigten sich hier signifikante Interaktionen, wurden diese durch paarweise, zweiseitige t-Tests genauer analysiert. Für die übrigen Erhebungen (polysomnographische Schlafregistrierung, SF-A-R, indirekte Kalorimetrie, EWL-K, MDBF-A, VAS, SSS) wurden einfaktorielle Varianzanalysen mit dem Innersubjektfaktor „Behandlung“ durchgeführt. Falls notwendig (Beteiligung von Faktoren mit ≥ 3 Stufen) wurden die Freiheitsgrade mit der Methode nach Greenhouse-Geisser korrigiert.

Zur Untersuchung eines Geschlechtseinflusses wurde für alle Erhebungen eine weitere Varianzanalyse (ANOVA) mit dem zusätzlichen Zwischensubjektfaktor „Geschlecht“ gerechnet. Da sich in bisherigen Studien bereits Hinweise auf Geschlechtsunterschiede der zentralnervösen Insulinwirkung gezeigt hatten (15, 58), wurde explorativ jedoch stets auch eine getrennte Betrachtung von Frauen und Männern vorgenommen.

Alle Blutwerte wurden durch Subtraktion des jeweiligen Grundlinien-Mittelwertes (der Messungen um 21.10 Uhr und 22.10 Uhr) grundlinienadjustiert. Für die grafische Darstellung wurden die adjustierten Werte auf einen gemeinsamen Grundlinienwert (Bestimmung durch Mittelwertbildung in der betrachteten Gruppe) bezogen. Die Auswertung der Blutwerte bzgl. des Innersubjektfaktors „Zeit“ fand grundsätzlich in vier Kategorien statt (sofern hiervon abgewichen wurde, wird an entsprechender Stelle darauf hingewiesen):

- alle Zeitpunkte: Werte nach Substanzgabe bis 06.40 Uhr (22.31 – 06.40 Uhr)
- Nacht: Werte während des Nachtschlafs (23.20 – 06.40 Uhr)
- NH1: Werte der 1. NH (23.20 – 02.40 Uhr)
- NH2: Werte der 2. NH (03.20 – 06.40 Uhr)

Alle Daten sind als Mittelwert (MW) $\pm$ Standardfehler (SEM, standard error of the mean) angegeben. Ein p-Wert $< 0,05$ gilt als signifikant.

4. Ergebnisse

4.1 Schlaf und Müdigkeit

4.1.1 Schlafdauer und Schlafarchitektur

Die polysomnographische Schlafregistrierung zur Bestimmung der Schlafdauer (Zeit zwischen Einschlafen und Aufwachen) und der Schlafarchitektur (zur objektiven Bewertung der Schlafqualität) zeigte nach Insulingabe im Vergleich zu Placebo in der Gesamtgruppe (Männer und Frauen zusammen) für keinen der untersuchten Parameter einen signifikanten Unterschied ($p > 0,20$ für alle Vergleiche, s. Tab. 2, S. 36).

Tabelle 2. Schlafdauer und Schlafarchitektur. Gesamtgruppe.

	Dauer (Minuten)			Anteil an Schlafdauer (%)		
	Insulin	Placebo	p	Insulin	Placebo	p
Schlafdauer	462,04 ± 3,28	461,14 ± 4,43	n.s.			
• W	6,02 ± 1,32	6,16 ± 1,57	n.s.	1,32 ± 0,30	1,32 ± 0,33	n.s.
• S1	32,63 ± 3,33	31,73 ± 4,08	n.s.	7,06 ± 0,72	6,96 ± 0,91	n.s.
• S2	251,25 ± 6,30	252,86 ± 7,37	n.s.	54,38 ± 1,31	54,87 ± 1,54	n.s.
• S3	36,98 ± 3,51	36,50 ± 3,30	n.s.	8,03 ± 0,77	8,01 ± 0,75	n.s.
• S4	37,38 ± 4,85	36,82 ± 5,29	n.s.	8,04 ± 1,04	7,87 ± 1,12	n.s.
• SWS	74,36 ± 4,47	73,32 ± 4,47	n.s.	16,08 ± 0,96	15,88 ± 0,95	n.s.
• REM	93,23 ± 3,91	92,04 ± 4,80	n.s.	20,19 ± 0,85	19,88 ± 0,97	n.s.
• Bewegung	4,55 ± 0,66	5,04 ± 0,63	n.s.	0,98 ± 0,14	1,08 ± 0,13	n.s.
SWS-Latenz	22,21 ± 4,42	17,25 ± 1,17	n.s.			
REM-Latenz	95,04 ± 7,46	106,13 ± 8,41	n.s.			
Bewegungs- artefakte	51,18 ± 8,59	55,36 ± 9,87	n.s.	(Angabe in 30-Sekunden-Epochen)		

Effekte der i.n. Insulingabe auf die Schlafdauer und die Schlafarchitektur der Probanden. Alle Werte sind als MW ± SEM angegeben, $p < 0,05$ gilt als signifikant. Schlafdauer, Zeitraum zwischen Einschlafen und Aufwachen; W, Wachzustand; S1–4, Schlafstadium 1–4; SWS, Deltaschlaf (slow wave sleep, S3 + S4); REM, REM-Schlaf (rapid eye movement); n.s., nicht signifikant.

Auch die zweifaktorielle ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Insulineffekte lieferte keine signifikanten Ergebnisse, es fielen lediglich tendenziell signifikante Interaktionen zwischen den Faktoren „Behandlung“ und „Geschlecht“ für den REM-Schlaf ($p = 0,058$ [absolute Werte] bzw. $p = 0,057$ [relative Werte bezogen auf die Schlafdauer]) und Bewegungsartefakte im Schlaf ($p = 0,083$) auf ($p > 0,13$ für alle anderen Parameter). Dementsprechend ließen sich auch in der geschlechtergetrennten Betrachtung (bis auf eine

tendenzielle Reduktion von Bewegungsartefakten bei den Frauen [$p=0,061$]) keine statistisch relevanten Unterschiede zwischen der Insulin- und Placebobedingung nachweisen ($p>0,10$ für alle anderen Vergleiche beider Geschlechter).

4.1.2 Subjektive Schlafqualität

Die Auswertung des SF-A-R zur subjektiven Beurteilung der Schlafqualität ergab für die Gesamtgruppe keine Hinweise auf eine wesentliche Veränderung der Schlafqualität durch die i.n. Insulingabe. Insbesondere berichteten die Probanden keine Unterschiede bei Einschlafdauer, nächtlichem Erwachen, Träumen, Qualität des Nachschlafs allgemein (u.a. Gleichmäßigkeit, Tiefe, Güte, Ruhe, Ausgiebigkeit) und der schlafassoziierten Befindlichkeit am Morgen (u.a. Ausgeglichenheit, Tatkraft, Munterkeit, Frische, Entspannung). Es zeigte sich lediglich, dass die Probanden sich vor dem Schlafengehen tendenziell weniger erschöpft ($p=0,096$) und signifikant weniger entspannt (Insulin vs. Placebo, $2,84 \pm 0,15$ vs. $3,16 \pm 0,12$, $p=0,048$) fühlten und am Morgen tendenziell häufiger Kopfschmerzen verspürten ($p=0,083$), wenn sie Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten.

Die zweifaktorielle ANOVA zur Beurteilung geschlechtsspezifischer Insulineinflüsse lieferte für den signifikanten Insulineffekt in der Gesamtgruppe (Gefühl, vor dem Schlafengehen weniger entspannt zu sein) den Nachweis einer eindeutigen Interaktion zwischen den Faktoren „Behandlung“ und „Geschlecht“ ($p=0,037$; $p>0,22$ für alle anderen Aspekte). Die geschlechtergetrennte Betrachtung zeigte dazu passend, dass dieser Insulineffekt nur bei den Frauen zu beobachten war (Insulin vs. Placebo, $2,73 \pm 0,18$ vs. $3,19 \pm 0,16$, $p=0,029$), während er bei den Männern nicht auftrat ($p>0,99$). Weitere signifikante Insulineffekte in den Untergruppen der Frauen und Männer waren nicht zu beobachten, allerdings deutete ein statistischer Trend bei den weiblichen Probanden zumindest an, dass diese nach Insulingabe (im Vergleich zu Placebo) das Gefühl hatten, besser geschlafen zu haben ($p=0,088$; $p>0,16$ für alle anderen Vergleiche beider Geschlechter).

4.1.3 Müdigkeit

Zur Beurteilung der Müdigkeit der Probanden wurden die hierfür relevanten Dimensionen der EWL-K (allgemeine Desaktivität mit den Befindlichkeitsaspekten Desaktiviertheit, Müdigkeit und Benommenheit), des MDBF-A (Wachheit/Müdigkeit) und der VAS (Müdigkeit) zusammen mit der SSS (Schläfrigkeit) ausgewertet. Vor Substanzgabe (21.15 Uhr)

zeigte sich in keiner dieser Dimensionen ein Unterschied zwischen der Insulin- und Placebobedingung ($p > 0,29$ für alle Vergleiche in der Gesamtgruppe einschließlich der Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und bei Frauen und Männern getrennt).

Auch kurz nach Substanzgabe (22.35 Uhr; MDBF-A, VAS, SSS) und am Morgen nach der VN (08.05 Uhr; EWL-K, MDBF-A, VAS, SSS) ließ sich für die Gesamtgruppe in keiner der zur Beurteilung der Müdigkeit ausgewerteten Dimensionen ein Unterschied zwischen der Insulin- und der Placebobedingung nachweisen ($p > 0,17$). Ein eindeutiger geschlechtsspezifischer Insulineffekt war zu diesen Zeitpunkten letztlich ebenfalls nicht nachweisbar, die einzige statistisch relevante Interaktion zwischen den Faktoren „Behandlung“ und „Geschlecht“ ($p = 0,041$ für Benommenheit [EWL-K] um 08.05 Uhr; $p > 0,30$ für alle anderen Vergleiche) fand keine signifikante Entsprechung in der geschlechtergetrennten Auswertung ($p = 0,054$ für reduzierte Benommenheit um 08.05 Uhr bei den Frauen; $p > 0,17$ für alle anderen Vergleiche beider Geschlechter).

Hingegen zeigten sich am Abend nach der VN (18.00 Uhr) in der Gesamtgruppe sowohl eine reduzierte Benommenheit (EWL-K; Insulin vs. Placebo, $0,10 \pm 0,07$ vs. $0,23 \pm 0,09$, $p = 0,043$) als auch eine verminderte Müdigkeit (VAS; Insulin vs. Placebo, $28,24 \pm 3,56$ vs. $39,79 \pm 3,90$ %, $p = 0,021$), wenn die Probanden am Vorabend Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten ($p > 0,11$ für alle anderen Dimensionen). Auch die zweifaktorielle ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Insulineffekte (in der Gesamtgruppe) und die geschlechtergetrennte Auswertung lieferten zu diesem Zeitpunkt mehrere statistisch relevante Ergebnisse, die zusammenfassend eine verminderte Müdigkeit bzw. gesteigerte Wachheit nach i.n. Insulingabe v.a. bei den Männern nachwiesen (s. Tab. 3, S. 38).

Tabelle 3. Müdigkeit um 18.00 Uhr des Folgetages. Frauen und Männer.

	Frauen			Männer			B $\times$ G
	Insulin	Placebo	p	Insulin	Placebo	p	p
<i>EWL-K</i> – aD	$2,31 \pm 1,06$	$2,69 \pm 0,94$	n.s.	$0,43 \pm 0,36$	$1,71 \pm 0,76$	0,039	n.s.
• Desaktiviertheit	$1,31 \pm 0,67$	$1,56 \pm 0,59$	n.s.	$0,21 \pm 0,15$	$0,43 \pm 0,20$	n.s.	n.s.
• Müdigkeit	$0,94 \pm 0,37$	$0,88 \pm 0,31$	n.s.	$0,07 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,46$	0,033	0,044
• Benommenheit	$0,06 \pm 0,06$	$0,25 \pm 0,11$	0,083	$0,14 \pm 0,14$	$0,21 \pm 0,15$	n.s.	n.s.
<i>MDBF-A</i> – WM	$14,63 \pm 0,76$	$14,38 \pm 0,74$	n.s.	$16,31 \pm 0,75$	$14,88 \pm 0,81$	0,038	n.s.
<i>VAS</i> – Müdigkeit	$30,85 \pm 4,25$	$39,32 \pm 5,14$	n.s.	$25,63 \pm 5,77$	$40,27 \pm 6,04$	0,047	n.s.
<i>SSS</i> – Schläfrigkeit	$2,25 \pm 0,23$	$2,44 \pm 0,20$	n.s.	$2,13 \pm 0,29$	$2,53 \pm 0,24$	n.s.	n.s.

Effekte der abendlichen i.n. Insulingabe auf die Müdigkeit der weiblichen und männlichen Versuchsteilnehmer um 18.00 Uhr des Folgetages. Vor Substanzgabe (21.15 Uhr) ergaben sich keine Unterschiede zwischen der Insulin- und Placebobedingung ($p > 0,29$ für alle Vergleiche bei beiden Geschlechtern). B $\times$ G, Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“; aD, allgemeine Desaktivität; WM, Wachheit/Müdigkeit; n.s., nicht signifikant. Alle Werte sind als MW $\pm$ SEM angegeben, $p < 0,05$ gilt als signifikant.

4.2 Blutglukose und Hormone

Bei der Auswertung der Blutglukose- und Hormonkonzentrationen ergaben sich weder für die Gesamtgruppe noch für Frauen und Männer getrennt signifikante Unterschiede der Grundlinienwerte (21.10 Uhr, 22.10 Uhr) zwischen den beiden Versuchsbedingungen. Da sich bei der C-Peptid-Bestimmung der Männer jedoch ein zumindest tendenziell höherer erster Grundlinienwert ($p=0,072$) zeigte, wurde hier für die Grundlinienadjustierung ausschließlich der zweite Grundlinienwert ($p=0,157$) verwendet.

4.2.1 Blutglukose

Der Verlauf der grundlinienadjustierten Blutglukosekonzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 4 (s. S. 40) dargestellt.

In der Gesamtgruppe (s. Abb. 4 A, S. 40) ergab sich kein signifikanter Haupteffekt für den Faktor „Behandlung“ ($p>0,48$ für alle Kategorien [s. Kap. 3.8]). Allerdings wies die signifikante Interaktion zwischen den Faktoren „Behandlung“ und „Zeit“ ($p<0,04$ für „alle Zeitpunkte“ und „NH1“, $p>0,10$ für „Nacht“ und „NH2“) auf einen zwischen der Insulin- und Placebobedingung unterschiedlichen Verlauf der Blutglukosekonzentration in der frühen Phase nach Substanzgabe hin. Dieser stellte sich (mithilfe paarweiser t-Tests) als kurzfristiger Abfall der BZ-Konzentration innerhalb der ersten Stunde nach Ende der i.n. Insulingabe (Nadir um 22.59 Uhr: Insulin vs. Placebo, $-0,41 \pm 0,13$ vs. $+0,01 \pm 0,09$ mmol/l, $p=0,012$) heraus. Während dieser Zeit trat jedoch bei keinem der Probanden eine Hypoglykämie ($BZ < 2,77$ mmol/l [50 mg/dl]; 63) auf.

Die ANOVA mit dem zusätzlichen Zwischensubjektfaktor „Geschlecht“ konnte keinen eindeutigen geschlechtsspezifischen Insulineinfluss nachweisen ($p>0,15$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen Kategorien). Die geschlechtergetrennte Auswertung (s. Abb. 4 B und C, S. 40) zeigte dennoch, dass der beobachtete Effekt auf den frühen BZ-Verlauf eher bei den Männern als bei den Frauen nachweisbar war (Haupteffekt „Behandlung“ bei beiden Geschlechtern: $p>0,14$ für alle Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Männern: $p=0,040$ für „alle Zeitpunkte“, $p>0,15$ für die übrigen Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Frauen: $p>0,27$ für alle Kategorien). Darüberhinaus ließen sich bei den Männern nach Insulingabe einige tendenziell verminderte Blutglukosewerte in den frühen Morgenstunden nachweisen (s. Abb. 4 C, S. 40).

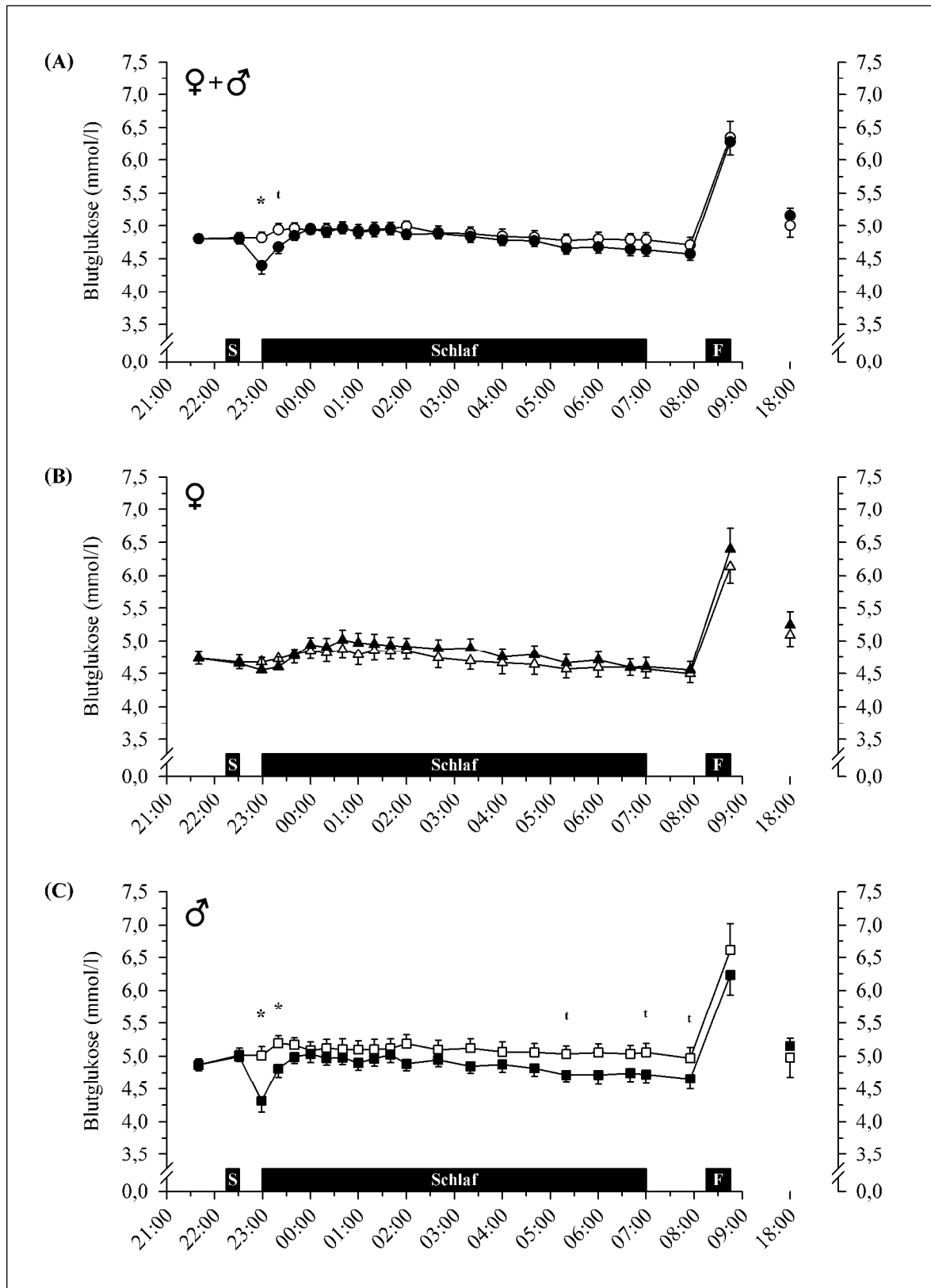


Abbildung 4. Blutglukosekonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. **(A)** Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). **(B)** Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). **(C)** Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Insulin i.n. führte in der Gesamtgruppe und bei den Männern zu einem kurzfristigen Abfall der Blutglukosekonzentration innerhalb der ersten Stunde nach Substanzgabe. S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

4.2.2 Insulin, C-Peptid und Glukagon

4.2.2.1 Insulin

Der Verlauf der grundlinienadjustierten Insulinkonzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 5 (s. S. 42) dargestellt.

In der Gesamtgruppe (s. Abb. 5 A, S. 42) zeigten sich zusammenfassend zwei Effekte. Zum einen kam es nach i.n. Insulingabe (im Vergleich zu Placebo) zu einer langanhaltenden Suppression der Blutinsulinkonzentration, die zwar das Signifikanzniveau verfehlte, aber für die 1. NH zumindest als statistischer Trend nachweisbar war (Haupteffekt „Behandlung“: $p=0,082$ für „NH1“, $p>0,10$ für die übrigen Kategorien). Am Abend nach der VN (18.00 Uhr) zeigte sich dieser supprimierende Effekt als signifikant geringere Zunahme der Blutinsulinkonzentration bei den Probanden (Insulin vs. Placebo, $+6,74 \pm 12,91$ vs. $+36,71 \pm 13,68$ pmol/l, $p=0,019$). Zum anderen wies die Interaktion zwischen den Faktoren „Behandlung“ und „Zeit“ ($p<0,001$ für „alle Zeitpunkte“, $p>0,30$ für die übrigen Kategorien) auf einen unterschiedlichen Verlauf der Insulinkonzentration kurz nach Substanzgabe hin. Dieser wurde durch eine unmittelbar nach i.n. Applikation (22.31 Uhr) auftretende kurzfristige Erhöhung der Insulinspiegel in der Insulinbedingung verursacht, während in der Placebobedingung zu diesem Zeitpunkt ein Abfall der Insulinkonzentration zu beobachten war (Insulin vs. Placebo, $+3,31 \pm 6,55$ vs. $-17,20 \pm 3,17$ pmol/l, $p=0,003$).

Die ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Einflüsse der Insulingabe konnte keinen eindeutigen Geschlechtseinfluss nachweisen ($p>0,32$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen Kategorien). Dennoch zeigte die geschlechtergetrennte Auswertung (s. Abb. 5 B und C, S. 42), dass beide in der Gesamtgruppe beobachteten Insulineffekte eher bei den Männern nachweisbar waren (Haupteffekt „Behandlung“ bei den Männern: $p=0,078$ für „NH1“, $p=0,087$ für „Nacht“, $p>0,11$ für die übrigen Kategorien; Haupteffekt „Behandlung“ bei den Frauen: $p>0,50$ für alle Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Männern: $p=0,003$ für „alle Zeitpunkte“, $p>0,42$ für die übrigen Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Frauen: $p=0,044$ für „alle Zeitpunkte“, $p>0,33$ für die übrigen Kategorien).

4.2.2.2 C-Peptid

Der Verlauf der grundlinienadjustierten C-Peptid-Konzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 6 (s. S. 43) dargestellt.

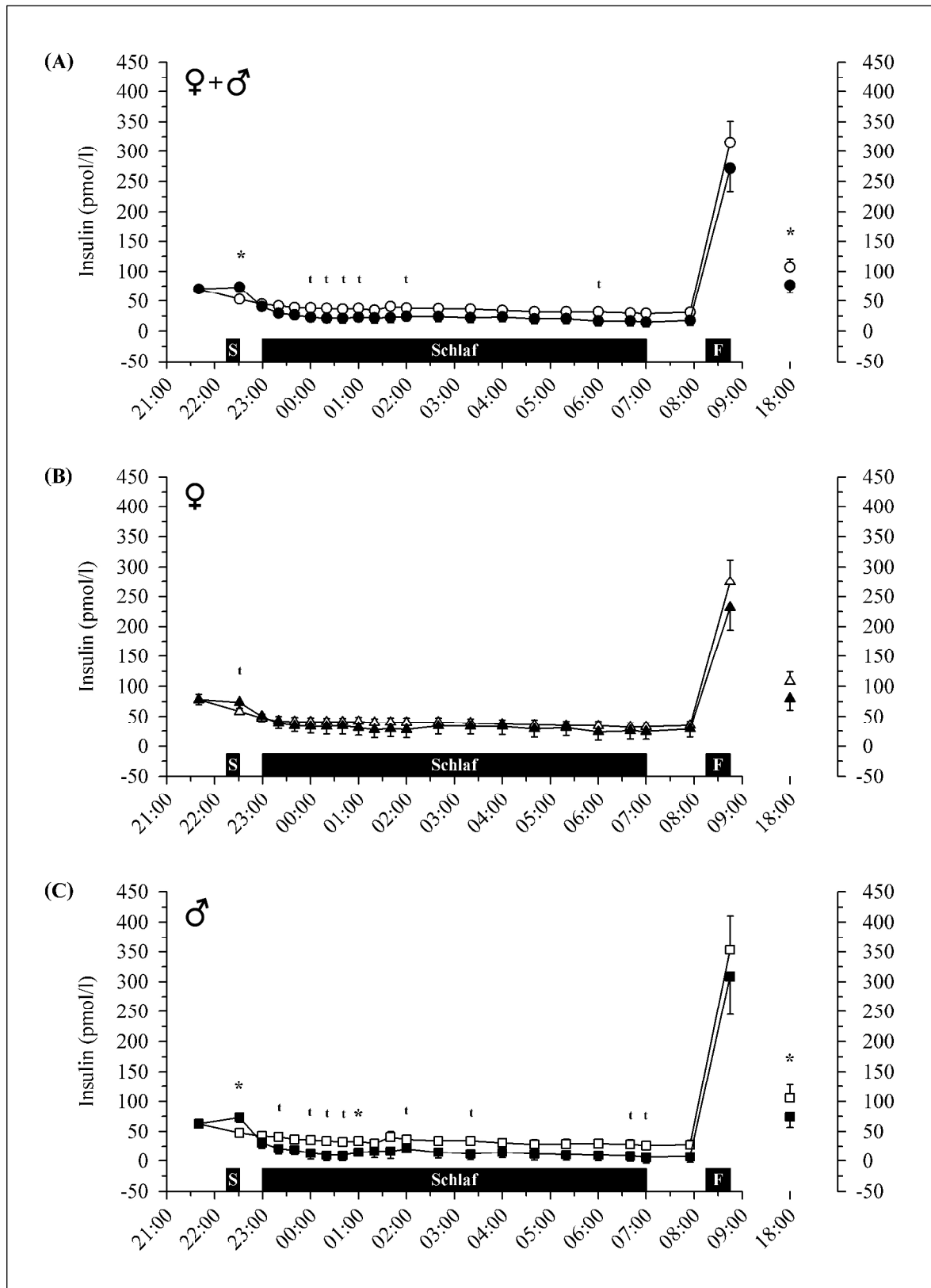


Abbildung 5. Insulinkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. **(A)** Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). **(B)** Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). **(C)** Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Insulin i.n. führte zu einem kurzfristigen Anstieg der Blutinsulinkonzentration unmittelbar nach Substanzgabe (signifikanter Effekt) und zu einer Suppression der Blutinsulinkonzentration in der 1. NH (tendenziell signifikanter Effekt). S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

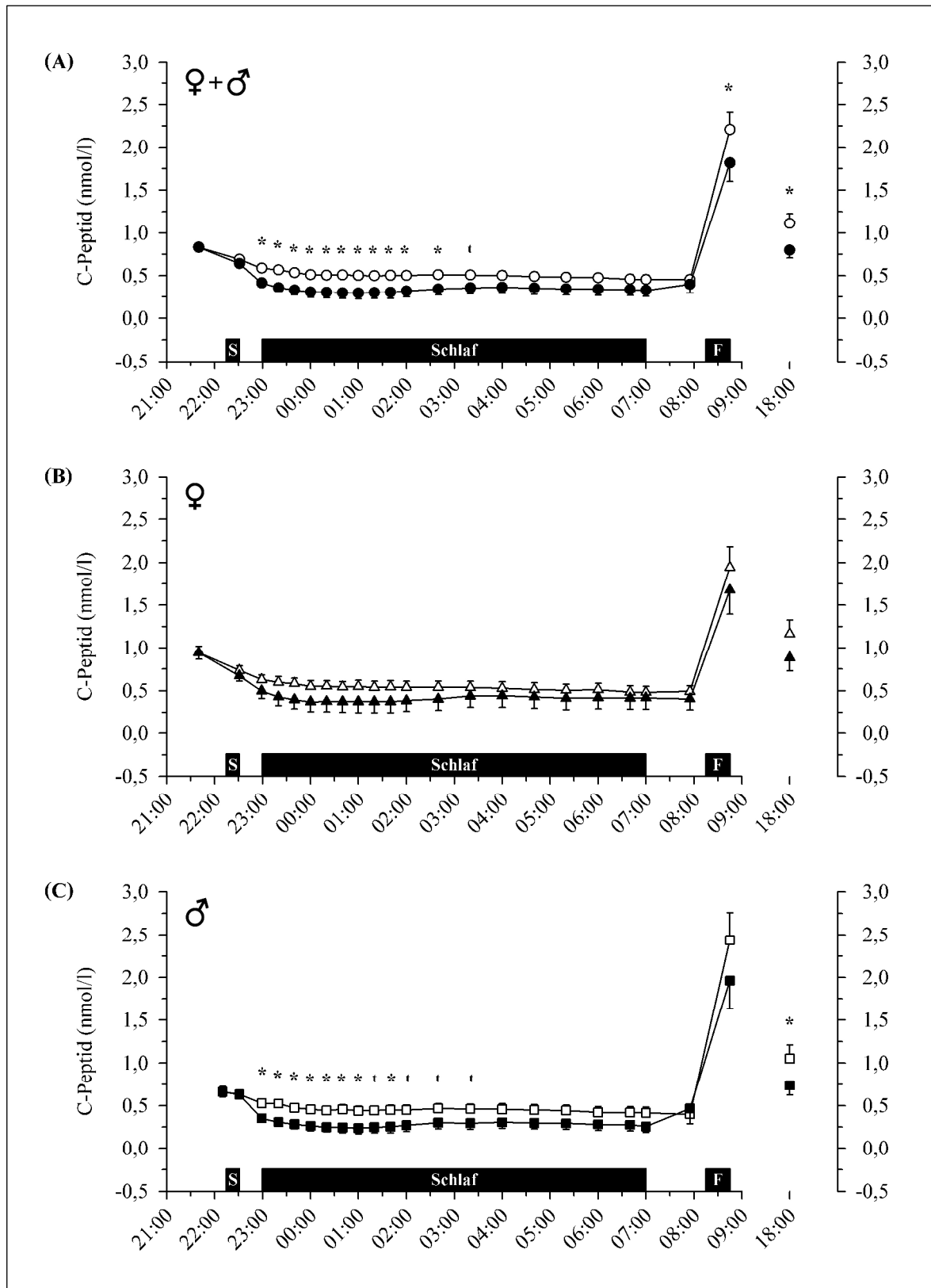


Abbildung 6. C-Peptid-Konzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. (A) Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). (B) Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). (C) Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Insulin i.n. führte in der Gesamtgruppe und bei den Männern zu einer langanhaltenden Suppression der C-Peptid-Konzentration in der 1. NH. S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

In der Gesamtgruppe (s. Abb. 6 A, S. 43) ergab sich nach i.n. Insulingabe eine langanhaltende Suppression der C-Peptid-Spiegel, die während des Nachtschlafs v.a. in der 1. NH nachweisbar war (Haupteffekt „Behandlung“: $p < 0,03$ für „alle Zeitpunkte“ und „Nacht“ und „NH1“, $p > 0,10$ für „NH2“). Aber auch nach dem Frühstück (08.45 Uhr) und abends (18.00 Uhr) am Tag nach der VN zeigten sich geringere grundlinienadjustierte C-Peptid-Konzentrationen, wenn die Versuchsteilnehmer am Vorabend Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten (08.45 Uhr: Insulin vs. Placebo, $+0,98 \pm 0,22$ vs. $+1,38 \pm 0,20$ nmol/l, $p = 0,037$; 18.00 Uhr: Insulin vs. Placebo $-0,03 \pm 0,09$ vs. $0,28 \pm 0,11$ nmol/l, $p = 0,005$). Durch die Suppression der C-Peptid-Spiegel v.a. in der 1. NH war der nächtliche Verlauf der Hormonkonzentration ebenfalls signifikant von der i.n. Insulingabe abhängig (Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“: $p < 0,02$ für „alle Zeitpunkte“ und „Nacht“, $p > 0,38$ für „NH1“ und „NH2“).

Die ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Einflüsse der Insulingabe konnte keinen eindeutigen Geschlechtseinfluss nachweisen ($p > 0,56$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen Kategorien). Die geschlechtergetrennte Auswertung (s. Abb. 6 B und C, S. 43) zeigte jedoch, dass der in der Gesamtgruppe beobachtete supprimierende Insulineffekt auf die C-Peptid-Konzentration nur bei den männlichen Probanden eindeutig nachweisbar war (Haupteffekt „Behandlung“ bei den Männern: $p = 0,039$ für „NH1“, $p = 0,054$ für „alle Zeitpunkte“, $p = 0,059$ für „Nacht“, $p > 0,11$ für „NH2“; Haupteffekt „Behandlung“ bei den Frauen: $p > 0,20$ für alle Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Männern: $p = 0,080$ für „alle Zeitpunkte“, $p > 0,13$ für die übrigen Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Frauen: $p = 0,073$ für „Nacht“, $p > 0,17$ für die übrigen Kategorien).

4.2.2.3 Glukagon

Der Verlauf der grundlinienadjustierten Glukagonkonzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 7 (s. S. 45) dargestellt. Bei der Bestimmung der Glukagonkonzentration wurden insgesamt sechs Verlaufswerte (23.40 Uhr, 03.20 Uhr, 04.00 Uhr, 05.20 Uhr, 06.00 Uhr, 07.00 Uhr) ausgelassen, sodass v.a. in der 2. NH größere Intervalle (2 Stunden) zwischen den Einzelmessungen resultierten. Dementsprechend wurde die ANOVA nicht separat für die Werte der 2. NH gerechnet (nur Kategorien „alle Zeitpunkte“, „Nacht“ und „NH1“).

In der Gesamtgruppe (s. Abb. 7 A, S. 45) hatte die i.n. Insulingabe keinen statistisch nachweisbaren globalen Effekt auf die Hormonspiegel im Verlauf der Versuchssitzungen

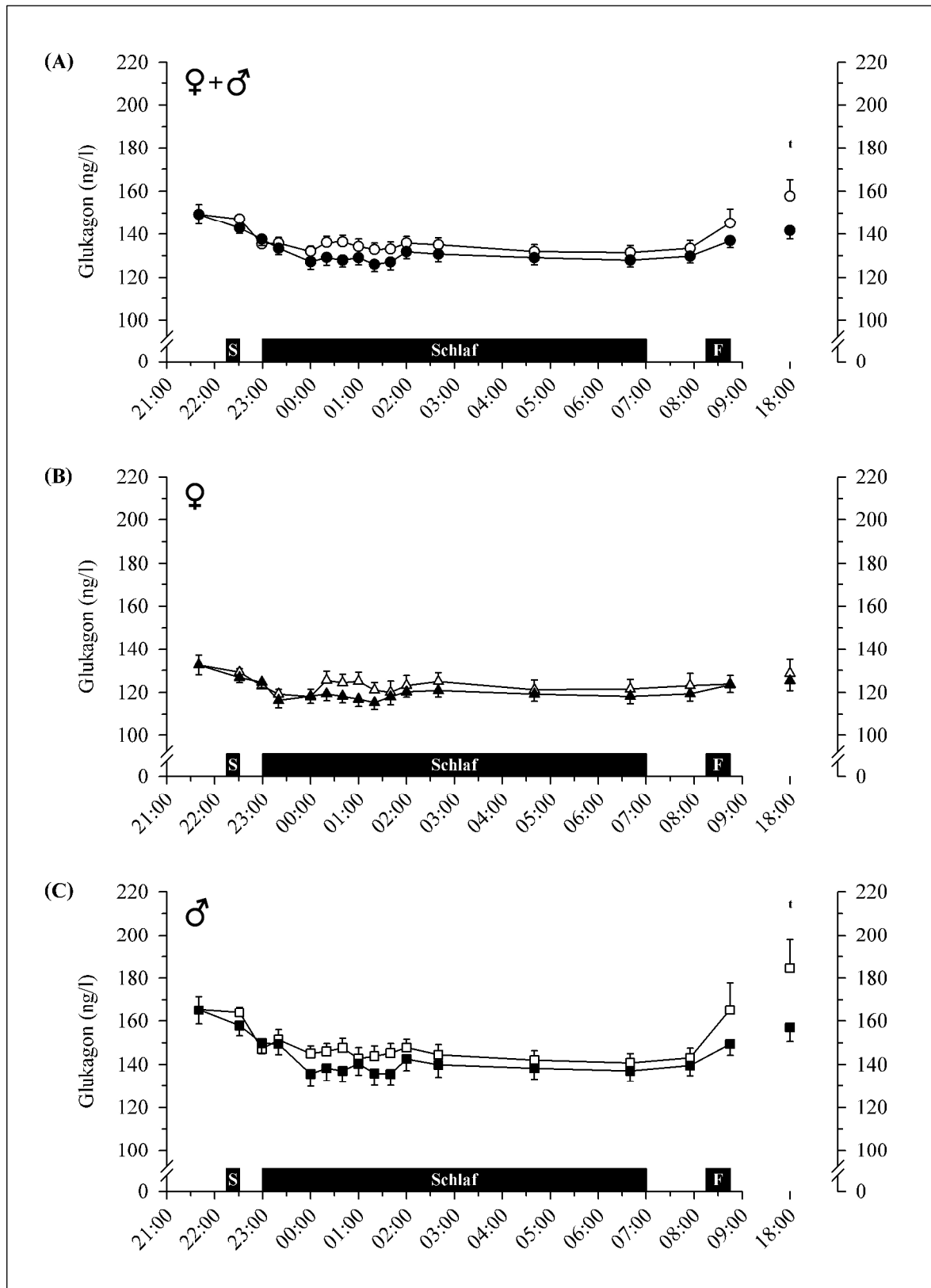


Abbildung 7. Glukagonkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. (A) Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). (B) Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). (C) Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Die Glukagonkonzentration der Probanden wurde durch die i.n. Insulingabe nicht wesentlich beeinflusst. S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

($p > 0,10$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ in allen drei Kategorien).

Die dreifaktorielle ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Einflüsse der Insulingabe zeigte außerdem keinen signifikanten Geschlechtseinfluss ($p > 0,54$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen drei Kategorien). Dies bestätigte sich in der getrennten Auswertung von Frauen und Männern ($p > 0,16$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei beiden Geschlechtern in allen drei Kategorien; s. Abb. 7 B und C, S. 45).

4.2.3 Leptin und Ghrelin

4.2.3.1 Leptin

Der Verlauf der grundlinienadjustierten Leptinkonzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 8 (s. S. 47) dargestellt. Die Bestimmung erfolgte aufgrund der geringeren Dynamik der Leptinkonzentrationen nur für einen Grundlinienwert unmittelbar vor Substanzgabe (22.10 Uhr) und sechs Verlaufswerte vorwiegend in der 1. NH (22.31 Uhr, 23.20 Uhr, 00.20 Uhr, 01.20 Uhr, 02.40 Uhr, 04.40 Uhr). Dementsprechend wurde die ANOVA ausschließlich für alle grundlinienadjustierten Verlaufswerte (bis 04.40 Uhr) gerechnet (keine weiteren Kategorien).

Für die Gesamtgruppe (s. Abb. 8 A, S. 47) ergab sich kein globaler Insulineffekt auf die Leptinkonzentrationen im Verlauf der Versuchssitzungen ($p > 0,17$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“).

Dagegen deutete sich in der dreifaktoriellen ANOVA (mit dem zusätzlichen Zwischensubjektfaktor „Geschlecht“) ein geschlechtsspezifischer Einfluss der i.n. Insulingabe auf die Leptinkonzentration zumindest an ($p = 0,051$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“; $p > 0,60$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“). Die getrennte Betrachtung weiblicher und männlicher Probanden (s. Abb. 8 B und C, S. 47) lieferte dementsprechend einen tendenziellen Behandlungseffekt nur bei den Frauen, der einem geringeren Anstieg der Leptinspiegel nach i.n. Insulingabe entsprach (Haupteffekt „Behandlung“ bei den Frauen: $p = 0,093$; Haupteffekt „Behandlung“ bei den Männern: $p > 0,50$; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei beiden Geschlechtern: $p > 0,56$). Dabei waren die Leptinkonzentrationen der Frauen generell deutlich höher als die der Männer (Frauen vs. Männer, $18,11 \pm 0,75$ vs. $3,51 \pm 0,18$ ng/ml, $p < 0,001$ [Placebobedingung]).

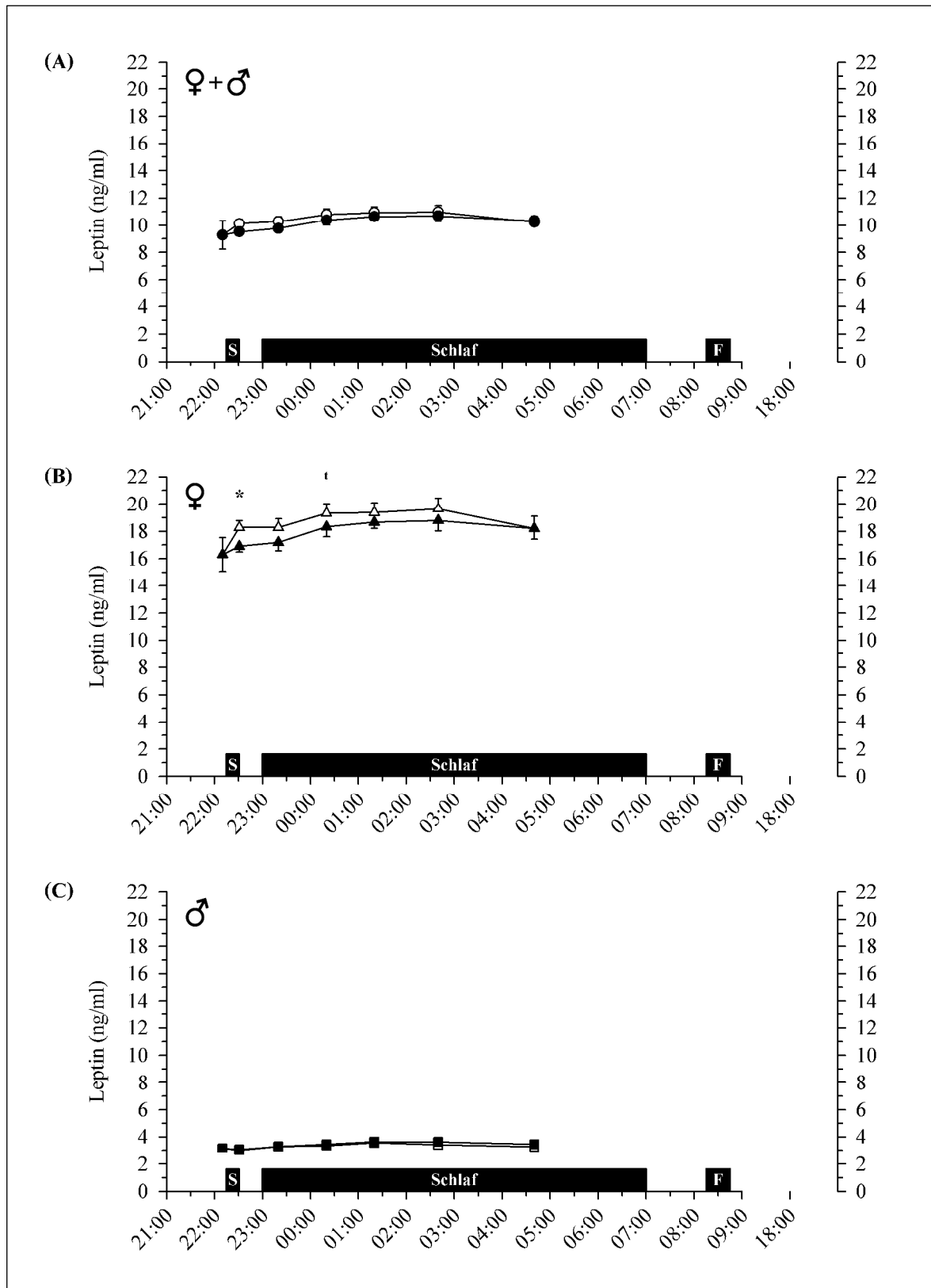


Abbildung 8. Leptinkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. **(A)** Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). **(B)** Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). **(C)** Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Bei den Frauen lagen die Leptin-Spiegel in der Insulinbedingung langanhaltend unter denen in der Placebobedingung (tendenziell signifikanter Effekt). S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

4.2.3.2 Ghrelin

Der Verlauf der grundlinienadjustierten Ghrelinkonzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 9 (s. S. 49) dargestellt. Bei der Bestimmung der Ghrelinkonzentration wurden insgesamt sechs Verlaufswerte (23.40 Uhr, 03.20 Uhr, 04.00 Uhr, 05.20 Uhr, 06.00 Uhr, 07.00 Uhr) ausgelassen, sodass v.a. in der 2. NH größere Intervalle (2 Stunden) zwischen den Einzelmessungen resultierten. Dementsprechend wurde die ANOVA nicht separat für die Werte der 2. NH gerechnet (nur Kategorien „alle Zeitpunkte“, „Nacht“ und „NH1“).

In der Gesamtgruppe (s. Abb. 9 A, S. 49) zeigte sich (trotz deskriptiv höherer grundlinienadjustierter Hormonspiegel während der gesamten Versuchssitzung) kein statistisch nachweisbarer Insulineffekt auf die Ghrelinkonzentration ($p > 0,31$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ in allen drei Kategorien).

Auch die ANOVA mit dem zusätzlichen Zwischensubjektfaktor „Geschlecht“ konnte keinen geschlechtsspezifischen Insulineinfluss auf die Ghrelinspiegel nachweisen ($p > 0,33$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen drei Kategorien). Allerdings verfehlten in der geschlechtergetrennten Auswertung (s. Abb. 9 B und C, S. 49) die langanhaltend höheren Ghrelinwerte der Männer nur knapp das Signifikanzniveau und wurden für den Zeitraum des Nachtschlafs zumindest tendenziell signifikant (Haupteffekt „Behandlung“ bei den Männern: $p = 0,095$ für „Nacht“, $p > 0,11$ für die übrigen Kategorien; Haupteffekt „Behandlung“ bei den Frauen: $p > 0,75$ für alle drei Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei beiden Geschlechtern: $p > 0,13$ für alle drei Kategorien). Nach dem Frühstück (08.45 Uhr) und am Abend nach der VN (18.00 Uhr) wurden die in der Insulinbedingung erneut höheren grundlinienadjustierten Ghrelinkonzentrationen der männlichen Versuchsteilnehmer dann auch statistisch signifikant (08.45 Uhr: Insulin vs. Placebo, $+52,85 \pm 33,39$ vs. $-37,89 \pm 31,48$ pg/ml, $p = 0,024$; 18.00 Uhr: Insulin vs. Placebo $+32,77 \pm 39,60$ vs. $-79,22 \pm 41,96$ pg/ml, $p = 0,006$).

4.2.4 ACTH und Cortisol

4.2.4.1 ACTH

In der Gesamtgruppe hatte die abendliche i.n. Insulingabe keinen Einfluss auf die ACTH-Konzentration im Verlauf der Versuchssitzungen ($p > 0,26$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ in allen Kategorien).

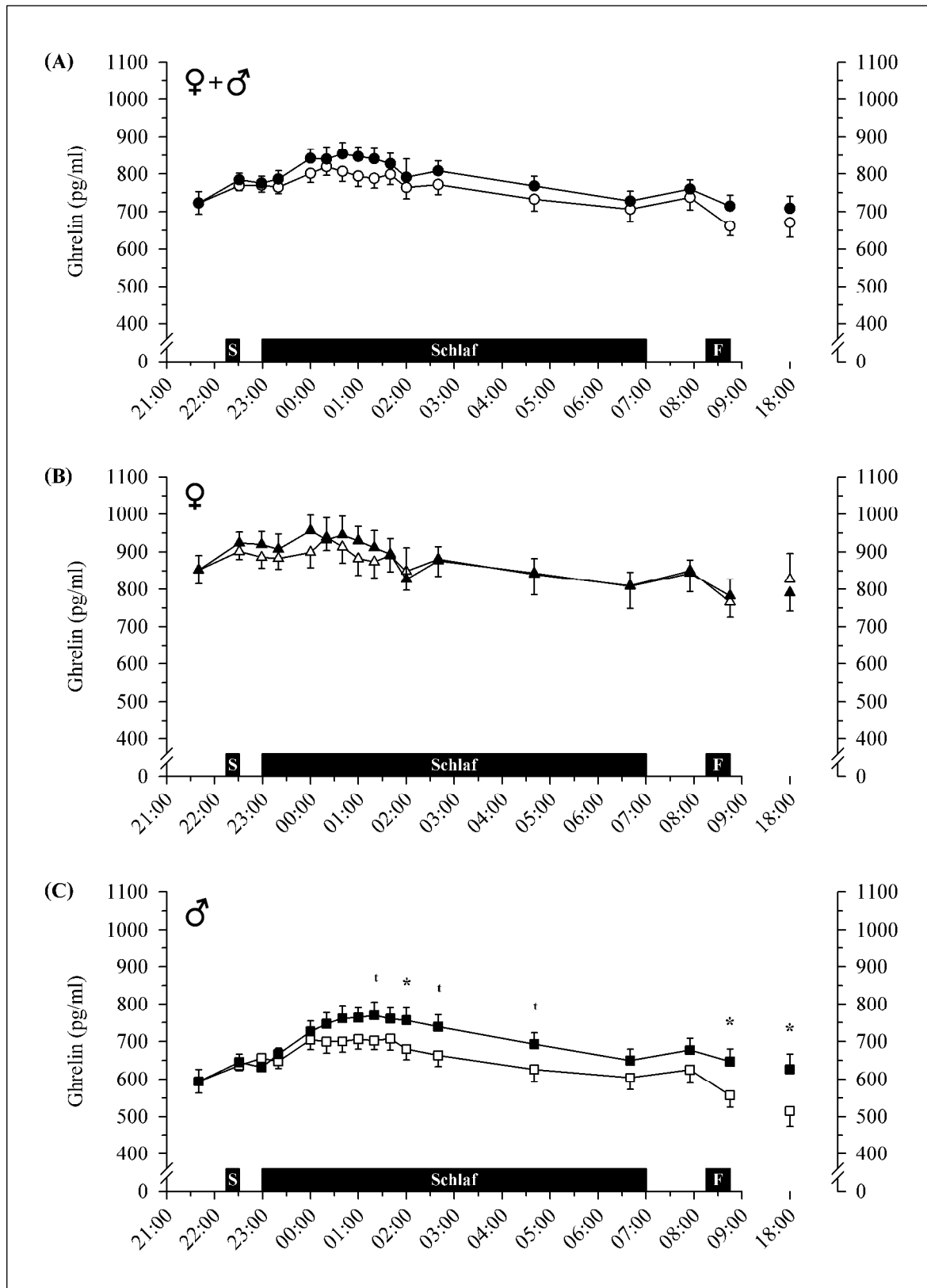


Abbildung 9. Ghrelinkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. **(A)** Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). **(B)** Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). **(C)** Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Bei den Männern lagen die Ghrelin Spiegel in der Insulinbedingung langanhaltend über denen in der Placebobedingung (tendenziell signifikanter Effekt). S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

Die dreifaktorielle ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Insulineffekte konnte außerdem keinen signifikanten Geschlechtseinfluss nachweisen ($p > 0,34$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen Kategorien) und wurde durch das Fehlen eines globalen Insulineffekts bei Frauen und Männern in der geschlechtergetrennten Auswertung bestätigt ($p > 0,12$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei beiden Geschlechtern in allen Kategorien).

4.2.4.2 Cortisol

In der Gesamtgruppe zeigte sich kein globaler Effekt der i.n. Insulingabe auf die Cortisolkonzentration der Versuchsteilnehmer im Verlauf der Versuchssitzungen ($p > 0,17$ für Haupteffekt „Behandlung“ und Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ in allen Kategorien).

Die ANOVA mit dem zusätzlichen Zwischensubjektfaktor „Geschlecht“ konnte außerdem keinen geschlechtsspezifischen Insulineinfluss nachweisen ($p > 0,35$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“ in allen Kategorien). Die getrennte Auswertung von Frauen und Männern bestätigte dies für die Höhe der Cortisolspiegel ($p > 0,50$ für Haupteffekt „Behandlung“ bei beiden Geschlechtern in allen Kategorien), wohingegen der Verlauf der Cortisolkonzentration in der 2. NH nur bei den Frauen signifikant von der i.n. Insulingabe beeinflusst wurde (Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Frauen: $p = 0,024$ für „NH2“, $p > 0,35$ für die übrigen Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Männern: $p > 0,50$ für alle Kategorien). In den Einzelvergleichen stellte sich dieser Insulineffekt bei den Frauen jedoch lediglich als eine leichte Veränderung der zeitlichen Dynamik der Cortisolspiegel heraus, die in den paarweisen t-Tests der entsprechenden Messzeitpunkte nur mit einem einzelnen, lediglich tendenziell signifikanten Unterschied zwischen der Insulin- und Placebobedingung einherging ($p = 0,091$ um 03.20 Uhr, $p > 0,32$ für alle anderen Zeitpunkte der 2. NH bei den Frauen).

4.2.5 GH

Der Verlauf der grundlinienadjustierten GH-Konzentration aller Probanden (Gesamtgruppe, Frauen, Männer) ist in Abb. 10 (s. S. 51) dargestellt.

In der Gesamtgruppe (s. Abb. 10 A, S. 51) zeigte sich nach i.n. Insulingabe im Vergleich zu Placebo eine Erhöhung des schlafassoziierten GH-Anstiegs in der 1. NH (Haupteffekt „Behandlung“: $p = 0,013$ für „NH1“, $p = 0,075$ für „Nacht“, $p > 0,13$ für „alle Zeitpunkte“

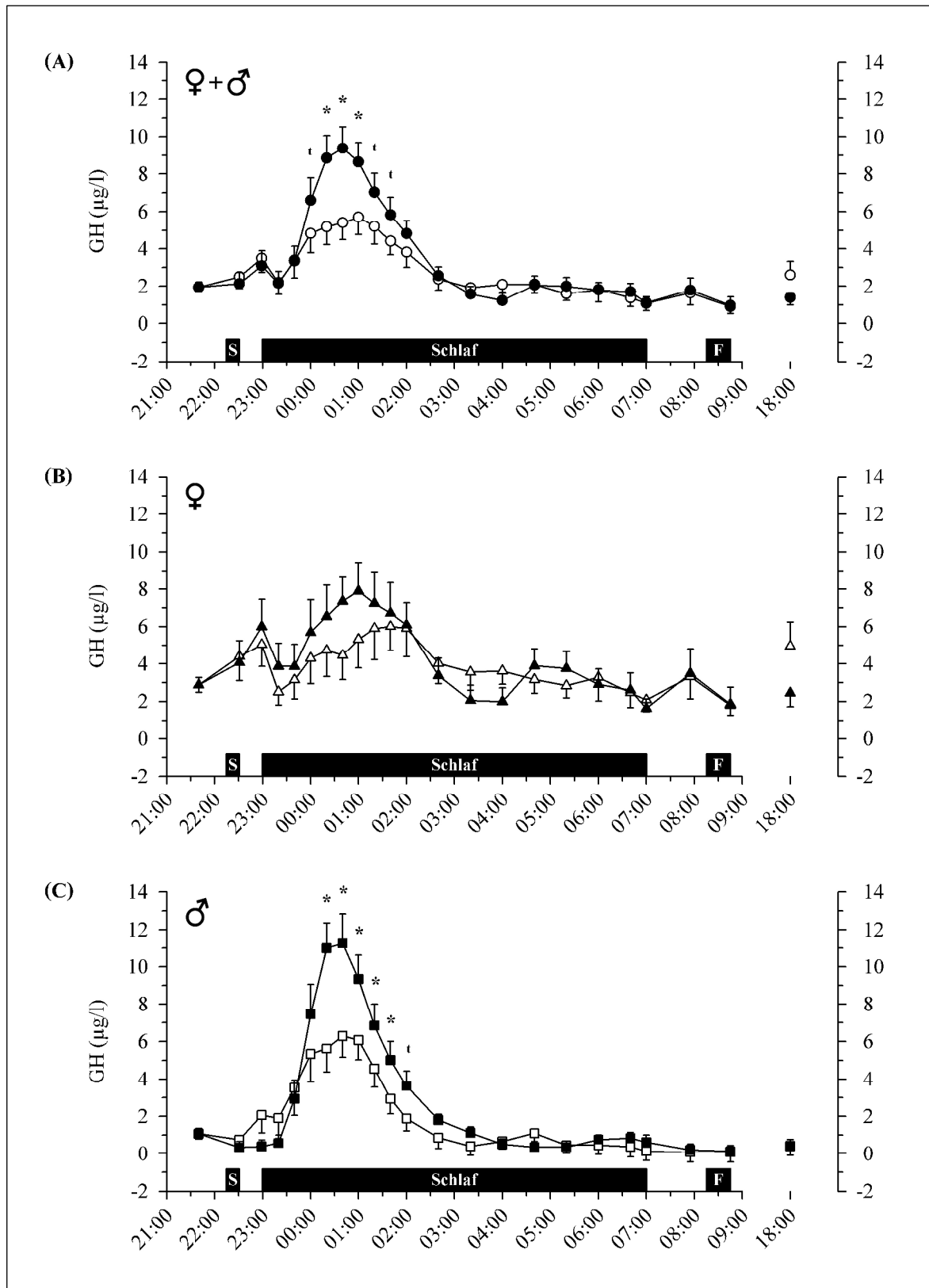


Abbildung 10. GH-Konzentration im Verlauf der Versuchssitzungen. **(A)** Gesamtgruppe: Insulin (●) vs. Placebo (○). **(B)** Frauen: Insulin (▲) vs. Placebo (△). **(C)** Männer: Insulin (■) vs. Placebo (□). Insulin i.n. führte in der Gesamtgruppe und bei den Männern zu einer Erhöhung des schlafassoziierten GH-Anstiegs in der 1. NH. S, Substanzgabe; F, Frühstück. *, $p < 0,05$ und t, $0,05 \leq p < 0,1$ für den Vergleich zu einzelnen Erhebungszeitpunkten (paarweise t-Tests).

und „NH2“). Diese erreichte ihre maximale Ausprägung um 00.40 Uhr (Insulin vs. Placebo, $+7,42 \pm 1,15$ vs. $+3,46 \pm 0,91$ $\mu\text{g/l}$, $p < 0,001$) und ging mit einer Erhöhung der maximalen GH-Konzentration um etwa 65 % einher. Im Rahmen dieses Effekts war auch der zeitliche Verlauf der GH-Konzentration (v.a. in der 1. NH) statistisch signifikant von der i.n. Insulingabe abhängig (Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“: $p < 0,01$ für „alle Zeitpunkte“ und „Nacht“ und „NH1“, $p > 0,34$ für „NH2“).

Die dreifaktorielle ANOVA zur Untersuchung geschlechtsspezifischer Einflüsse der Insulingabe konnte hingegen keinen signifikanten Geschlechtseinfluss nachweisen, lediglich ein statistischer Trend deutete einen möglichen geschlechtsspezifischen Insulineffekt auf den GH-Verlauf in der 2. NH an (Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“: $p > 0,51$ für alle Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit $\times$ Geschlecht“: $p = 0,0501$ für „NH2“, $p > 0,13$ für die übrigen Kategorien). Die nach Geschlechtern getrennte Auswertung (s. Abb. 10 B und C, S. 51) ergab dennoch, dass die in der Gesamtgruppe beobachtete Erhöhung des schlafassoziierten GH-Anstiegs in der 1. NH nur in der Untergruppe der Männer ebenfalls eindeutig nachweisbar war (Haupteffekt „Behandlung“ bei den Männern: $p < 0,04$ für „Nacht“ und „NH1“, $p = 0,086$ für „alle Zeitpunkte“, $p > 0,87$ für „NH2“; Haupteffekt „Behandlung“ bei den Frauen: $p > 0,26$ für alle Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Männern: $p < 0,02$ für alle Kategorien; Interaktion „Behandlung $\times$ Zeit“ bei den Frauen: $p > 0,12$ für alle Kategorien). Der angedeutete Geschlechtsunterschied bzgl. des substanzabhängigen GH-Verlaufs in der 2. NH stellte sich lediglich als leichte Veränderung der zeitlichen Dynamik der GH-Spiegel nur bei den Männern heraus (Anzeichen für eine Phasenverschiebung eines zweiten, kleineren GH-Gipfels, deren Ursache möglicherweise die längere Dauer des verstärkten, ersten GH-Gipfels gewesen sein könnte). In den Einzelvergleichen der Messwerte ging dies jedoch nicht mit statistisch relevanten Unterschieden zwischen der Insulin- und Placebobedingung einher ($p > 0,19$ für alle Vergleiche einzelner Messzeitpunkte der 2. NH bei den Männern).

4.3 Energiehaushalt und Hunger- und Durstgefühl

4.3.1 Ruheenergieumsatz

Für die Gesamtgruppe ergab sich kein Einfluss der abendlichen i.n. Insulingabe auf den absoluten oder körpergewichtsadaptierten Ruheenergieumsatz am Folgemorgen ($p > 0,31$ für beide Parameter). Auch das gemessene CO_2 - und O_2 -Volumen und der (sich daraus

ergebende) respiratorische Quotient (RQ) blieben von der i.n. Insulingabe unbeeinflusst ($p > 0,20$ für alle drei Parameter).

Die zweifaktorielle ANOVA zur Untersuchung einer geschlechtsspezifischen Insulinwirkung konnte außerdem für keinen der untersuchten Parameter einen signifikanten Geschlechtseinfluss nachweisen ($p > 0,80$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“ aller fünf Parameter). Dies bestätigte sich in der geschlechtergetrennten Auswertung, die weder bei den weiblichen noch bei den männlichen Probanden signifikante Unterschiede zwischen der Insulin- und Placebobedingung zeigte ($p > 0,10$ für alle fünf Parameter bei beiden Geschlechtern).

4.3.2 Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung

Die Ergebnisse der mithilfe des standardisierten Frühstücksbuffets untersuchten Nahrungsaufnahme sind in Abb. 11 (s. S. 54) dargestellt.

Für die Gesamtgruppe (s. Abb. 11 A, S. 54) ergab sich in der zweifaktoriellen ANOVA (Innersubjektfaktoren „Behandlung“ und „Makronährstoff/Makronährstoffanteil“) ein signifikanter Haupteffekt für den Faktor „Behandlung“ ($p = 0,043$), der einer Reduktion der Gesamtnahrungsaufnahme nach i.n. Insulingabe (im Vergleich zu Placebo) entsprach (Insulin vs. Placebo, $1032,90 \pm 60,44$ vs. $1128,64 \pm 70,78$ kcal, $p = 0,043$). Außerdem deutete die ANOVA im Rahmen eines statistischen Trends einen unterschiedlichen Effekt der Insulingabe auf die Aufnahme einzelner Nährstoffgruppen an ($p = 0,085$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Makronährstoff“). Entsprechend zeigte sich in den Einzelvergleichen, dass in der Insulin- im Vergleich zur Placebobedingung signifikant weniger Kohlenhydrate verzehrt wurden (Insulin vs. Placebo, $531,03 \pm 28,66$ vs. $587,09 \pm 36,26$ kcal, $p = 0,012$), während die Aufnahme von Fetten und Proteinen nicht signifikant verändert war ($p > 0,18$ für beide Vergleiche). Die (prozentuale) Zusammensetzung der Nahrungsaufnahme aus den drei Makronährstoffen änderte sich durch die i.n. Insulingabe jedoch nicht ($p > 0,63$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Makronährstoffanteil“). In den entsprechenden (explorativen) Einzelvergleichen war lediglich eine tendenzielle Zunahme des Proteinanteils erkennbar ($p = 0,084$; $p > 0,60$ für den Kohlenhydrat- und Fettanteil).

In der dreifaktoriellen ANOVA (mit dem zusätzlichen Zwischensubjektfaktor „Geschlecht“) ließ sich kein geschlechtsspezifischer Insulineinfluss auf die Nahrungsaufnahme oder die Nahrungszusammensetzung nachweisen ($p > 0,55$ für die Interaktionen „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und „Behandlung $\times$ Makronährstoff/Makronährstoffanteil $\times$ Ge-

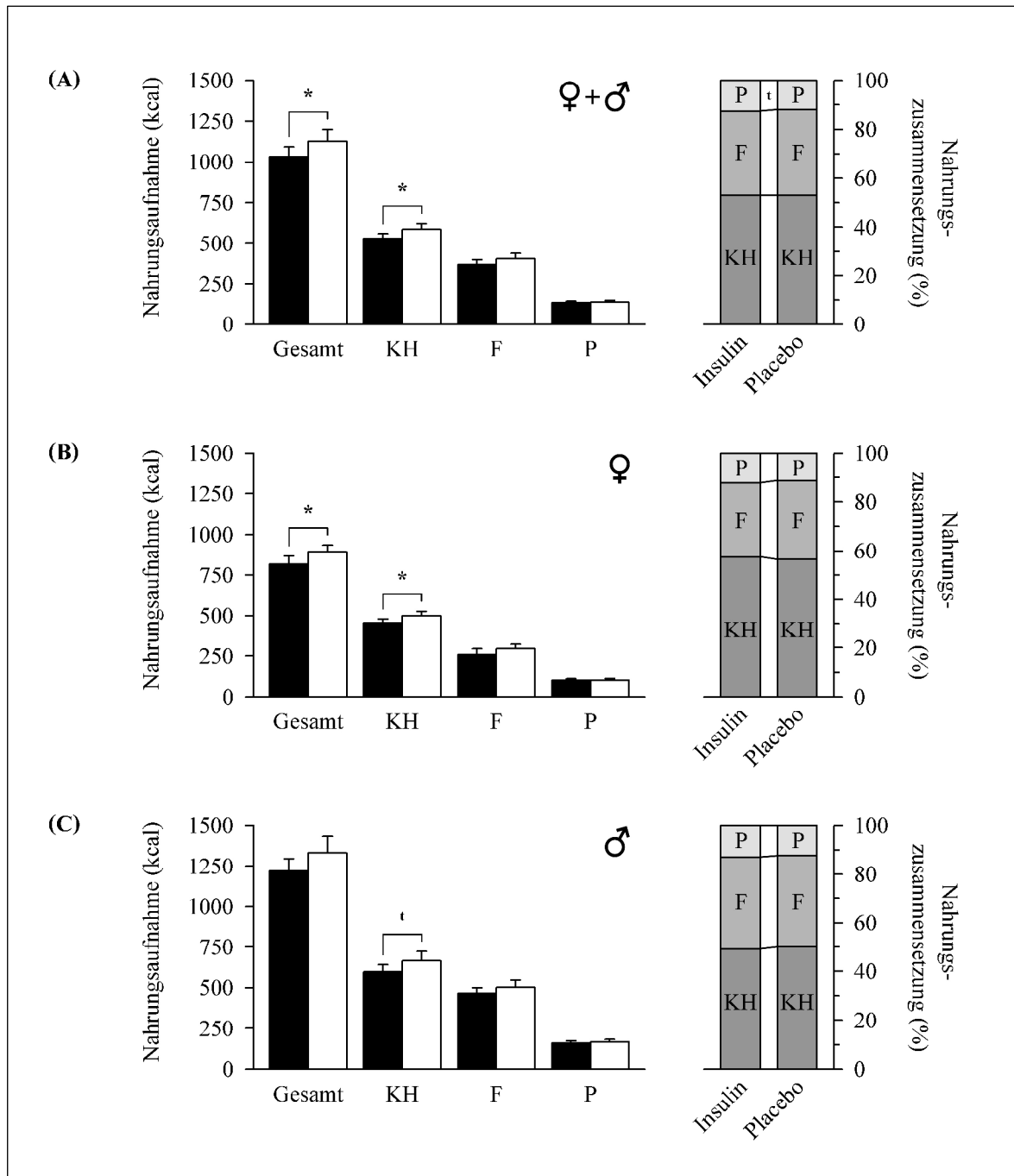


Abbildung 11. Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung beim Testfrühstück. Insulin (■) vs. Placebo (□). (A) Gesamtgruppe. (B) Frauen. (C) Männer. Die abendliche i.n. Insulingabe führte in der Gesamtgruppe und bei den Frauen zu einer signifikanten Reduktion der Gesamtnahrungsaufnahme (Gesamt) und der Kohlenhydrataufnahme beim Testfrühstück am Morgen nach der VN. Die Nahrungszusammensetzung bzgl. Kohlenhydraten (KH), Fetten (F) und Proteinen (P) änderte sich hierdurch jedoch nicht signifikant. Zur Umrechnung der Nahrungsaufnahme in kJ mit 4,1868 multiplizieren. *, $p < 0,05$ und t , $0,05 \leq p < 0,1$.

schlecht“). Dennoch ergab die geschlechtergetrennte Auswertung (s. Abb. 11 B und C, S. 54), dass der bereits in der Gesamtgruppe beobachtete anorexigene Insulineffekt nur in der Untergruppe der Frauen ebenfalls eindeutig nachweisbar war (Haupteffekt „Behand-

lung“ bei den Frauen: $p=0,018$; Haupteffekt „Behandlung“ bei den Männern: $p>0,19$; Interaktion „Behandlung $\times$ Makronährstoff“ bei beiden Geschlechtern: $p>0,22$). Die (prozentuale) Zusammensetzung der verzehrten Nahrung änderte sich auch in den Untergruppen der Frauen und Männer durch die i.n. Insulingabe nicht ($p>0,57$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Makronährstoffanteil“ bei beiden Geschlechtern).

Alle Effekte zeigten sich in sehr ähnlicher Weise auch nach Körpergewichtsadaptation (Daten nicht gezeigt).

4.3.3 Hunger- und Durstgefühl

Das Hungergefühl der Probanden (Erhebung mithilfe der VAS um 21.15 Uhr, 22.35 Uhr, 08.05 Uhr und 18.00 Uhr) unterschied sich in der Gesamtgruppe nicht zwischen der Insulin- und Placebobedingung ($p>0,53$ für alle untersuchten Zeitpunkte). Auch geschlechtsspezifische Insulineffekte auf das Hungergefühl waren nicht nachweisbar ($p>0,15$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und die entsprechenden Vergleiche in der geschlechtergetrennten Auswertung zu allen untersuchten Zeitpunkten).

Das Durstgefühl (Erhebung mithilfe der VAS um 21.15 Uhr, 22.35 Uhr, 08.05 Uhr und 18.00 Uhr) wurde in der Gesamtgruppe ebenfalls zu keinem Zeitpunkt durch die i.n. Insulingabe beeinflusst ($p>0,23$ für alle untersuchten Zeitpunkte). Auch ein eindeutiger Geschlechtseinfluss ließ sich hier nicht nachweisen, allerdings deutete die unmittelbar nach Substanzgabe (22.35 Uhr) zu beobachtende, tendenziell signifikante Interaktion zwischen den Faktoren „Behandlung“ und „Geschlecht“ ($p=0,058$; $p>0,22$ für alle übrigen Zeitpunkte) an, dass zu diesem Zeitpunkt nur bei den Männern ein vermindertes Durstgefühl auftrat, wenn die Probanden zuvor Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten (Insulin vs. Placebo, $45,73 \pm 5,12$ vs. $54,59 \pm 4,34$ %, $p=0,037$; $p>0,23$ für alle übrigen Zeitpunkte bei den Männern und alle Zeitpunkte bei den Frauen).

4.4 Kreislaufparameter und generelle Befindlichkeit

4.4.1 Herzfrequenz und Blutdruck

Die Auswertung von Herzfrequenz und Blutdruck ergab in der Gesamtgruppe zu keinem Zeitpunkt Unterschiede zwischen der Insulin- und Placebobedingung ($p>0,46$ [Herzfrequenz] bzw. $p>0,15$ [Blutdruck] für alle untersuchten Zeitpunkte). Auch ein signifikanter

geschlechtsspezifischer Insulineinfluss auf die beiden Kreislaufparameter konnte nicht gefunden werden ($p > 0,19$ [Herzfrequenz] bzw. $p > 0,05$ [Blutdruck] für die Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“ und die entsprechenden Vergleiche in der geschlechtergetrennten Auswertung zu allen untersuchten Zeitpunkten).

4.4.2 Generelles Wohlbefinden

Die Beurteilung des generellen Wohlbefindens hatte im Rahmen dieser Untersuchung lediglich kontrollierenden Charakter, sodass nur die in diesem Zusammenhang relevanten Dimensionen des MDBF-A (gute/schlechte Stimmung) und der VAS (generelles Wohlbefinden) ausgewertet wurden. Eine genauere Beurteilung eventueller Befindlichkeitsänderungen (unter Einbeziehung der wesentlich differenzierteren Befindlichkeitserhebung mithilfe der EWL-K) erfolgt in einer separaten Dissertation, in deren Mittelpunkt die kognitiven Insulineffekte im Zusammenhang mit dem Nachtschlaf stehen (s. Kap. 3.2).

Die bipolare Dimension gute/schlechte Stimmung des MDBF-A und der Befindlichkeitsaspekt generelles Wohlbefinden der VAS lieferten für die Gesamtgruppe zu keinem Erhebungszeitpunkt (21.15 Uhr, 22.35 Uhr, 08.05 Uhr, 18.00 Uhr) einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Versuchsbedingungen ($p > 0,10$ für alle Vergleiche). Auch ein geschlechtsspezifischer Insulineinfluss konnte nicht nachgewiesen werden ($p > 0,19$ für Interaktion „Behandlung $\times$ Geschlecht“ zu allen Erhebungszeitpunkten). Dies bestätigte sich in der geschlechtergetrennten Auswertung, lediglich im MDBF-A (gute/schlechte Stimmung) zeigte sich am Abend nach der VN (18.00 Uhr) eine tendenziell bessere Stimmung bei den Männern, wenn diese am Vorabend Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten ($p = 0,092$; $p > 0,15$ für alle anderen Vergleiche bei beiden Geschlechtern).

Von den 32 Versuchsteilnehmern gaben am Ende der Placebobedingung 16 Probanden an, sie hätten Insulin i.n. erhalten, am Ende der Insulinbedingung meinten dies 10 Probanden ($p > 0,12$; Chi-Quadrat-Test nach Pearson).

5. Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde im Rahmen der Erforschung zentralnervös vermittelter Insulineffekte der Einfluss von i.n. appliziertem Insulin auf den Nachtschlaf, die nächtlichen Blutkonzentrationen von Glukose und metabolisch relevanten Hormonen sowie den morgendlichen Energiehaushalt gesunder Frauen und Männer untersucht. Es zeigte sich, dass die i.n. Gabe von 160 IE Humaninsulin etwa 30–45 Minuten vor der nächtlichen Bettruhe keine relevanten Veränderungen des Nachtschlafs verursacht, jedoch die Glukosehomöostase und die somatotrope Achse beeinflusst und die Nahrungsaufnahme am Folgemorgen reduziert. Obwohl sich keine eindeutigen Geschlechtsunterschiede ermitteln ließen, waren die Veränderungen von Glukosehomöostase und somatotroper Achse v.a. bei den Männern und die reduzierte Nahrungsaufnahme v.a. bei den Frauen zu beobachten.

5.1 Schlaf und Müdigkeit

Die i.n. Insulingabe etwa 30–45 Minuten vor der nächtlichen Bettruhe hatte keinen Einfluss auf den Nachtschlaf der Probanden. Insbesondere zeigten sich keine Unterschiede der Schlafdauer, der Schlafarchitektur (Dauer und Anteil der verschiedenen Schlafphasen, Dauer bis zur ersten SWS- und REM-Schlafphase) und der subjektiven Schlafqualität.

Bisherige Studien haben gezeigt, dass die i.n. Applikation von Insulin innerhalb von 30–40 Minuten zu einer Insulinerhöhung im Liquor führt (21) und zentralnervös vermittelte Insulineffekte auslösen kann (56, 79). Letzteres war in der vorliegenden Studie für mehrere Untersuchungsparameter nachweisbar (s.u.), sodass von einer ausreichenden Wirksamkeit der i.n. Insulingabe zur Auslösung zentraler Insulineffekte auszugehen ist. Aufgrund der negativen Ergebnisse bzgl. der Schlaferhebungen ist demnach anzunehmen, dass eine Verstärkung des zentralnervösen Insulinsignals keinen unmittelbaren Einfluss auf den Nachtschlaf des Menschen hat. Besonders hervorzuheben ist dies, da bisher kaum Erkenntnisse zum zentralen Insulineinfluss auf den Nachtschlaf des Menschen vorliegen (keine publizierten Schlafstudien mit i.n. Insulingabe oder hyperinsulinämisch-euglykämischer Clamp-Technik). Lediglich bei Patienten mit einem DM Typ 1 und erhöhten nächtlichen Blutinsulinkonzentrationen (aufgrund der Insulintherapie) konnte eine Verschiebung der Schlafarchitektur hin zu leichterem Schlaf (weniger SWS in der 1. NH, mehr S2 in der gesamten Nacht) beobachtet werden (74). Dies widerspricht jedoch nicht den vorliegenden Ergebnissen, da aus jener Studie (u.a. aufgrund des Auftretens weiterer

Veränderungen) keine eindeutigen ursächlichen Zusammenhänge abgeleitet werden können. Bei männlichen Ratten wurde hingegen in den 1980er Jahren ein fördernder Einfluss auf den SWS bei fraglich hemmendem Einfluss auf den REM-Schlaf als zentrale Insulinwirkung nachgewiesen (38, 39, 146). Entsprechende Untersuchungen neueren Datums oder mit anderen Versuchstieren (Hunde, Primaten) existieren allerdings nicht und für die damals beobachteten Effekte fanden sich in der vorliegenden Studie keine Entsprechungen.

Insgesamt liefert diese Untersuchung erste Hinweise, dass zentralnervöses Insulin beim Menschen keinen relevanten Einfluss auf den Nachtschlaf zu haben scheint. Außerdem kann für die vorliegende Studie ausgeschlossen werden, dass andere beobachtete Effekte (indirekt) durch insulinbedingte Schlafveränderungen verursacht wurden.

Bezüglich der Müdigkeit berichteten die Probanden in der vorliegenden Untersuchung überraschenderweise, sich am Abend nach der VN (18.00 Uhr) weniger müde und benommen zu fühlen, wenn sie am Vorabend Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten. Obwohl sich das verminderte Müdigkeitsgefühl nur in einer untersuchten Dimension mit eindeutiger Geschlechtsspezifität (Vorhandensein nur bei den Männern) zeigte, war es in der geschlechtergetrennten Auswertung auch generell eher bei den männlichen Probanden zu beobachten. Dies könnte auf eine durch die i.n. Insulingabe verbesserte Schlafqualität in der vorangehenden VN v.a. bei den Männern hinweisen, steht jedoch im Widerspruch zu den negativen Ergebnissen der Schlaferhebungen bei beiden Geschlechtern (s.o.). Vergleichsuntersuchungen für die Müdigkeitsbeurteilung existieren in Bezug auf den abendlichen Erhebungszeitpunkt nicht. Bisherige Untersuchungen zeigten das Fehlen eines veränderten Müdigkeitsgefühls nach akuter i.n. Insulingabe am Tag (12, 57, 79). Darüberhinaus konnte nach 8-wöchiger i.n. Insulingabe von 4×40 IE täglich (tgl.) mit jeweils 40 IE unmittelbar vor dem Schlafengehen kein Einfluss auf das morgendliche Müdigkeitsgefühl festgestellt werden (12, 57). Dieses Ergebnis wurde in der vorliegenden Studie für die abendliche Gabe von 160 IE Insulin (d.h. höhere Dosis) und die morgendliche Erhebung nach nur einer Nacht (d.h. ohne langfristige Kompensationsmöglichkeiten) bestätigt.

5.2 Blutglukose und Hormone

5.2.1 Glukosemetabolismus: Glukose, Insulin, C-Peptid und Glukagon

Etwa 30 Minuten nach Abschluss der i.n. Insulingabe (um 22.59 Uhr) kam es zu einem geringfügigen und kurzfristigen, aber dennoch signifikanten Abfall der BZ-Konzentration

(um 23.20 Uhr nur noch als statistischer Trend erkennbar), bei dem jedoch keiner der Probanden eine Hypoglykämie entwickelte. Korrespondierend hierzu zeigte sich eine kurzfristige und geringfügige, aber ebenfalls signifikante Erhöhung der Blutinsulinkonzentration der Versuchsteilnehmer unmittelbar nach Ende der i.n. Insulingabe (um 22.31 Uhr). Da die Insulinerhöhung nicht von einer Erhöhung der C-Peptid-Konzentration im Blut (als Marker für die endogene Insulinproduktion) begleitet wurde, ist davon auszugehen, dass ein geringer Teil des i.n. verabreichten Humaninsulins die Nasenschleimhaut penetriert hat und in die Blutzirkulation gelangte, wo es als Erhöhung der Blutinsulinkonzentration nachweisbar wurde. Da Humaninsulin nach i.v. Gabe etwa 5–10 Minuten bis zum Wirkungseintritt (BZ-Senkung) benötigt und eine Wirkdauer von etwa 60 Minuten hat (175), ist die Verminderung der BZ-Konzentration um 22.59 Uhr (und 23.20 Uhr) mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die erhöhte Blutinsulinkonzentration um 22.31 Uhr zurückzuführen und insgesamt am ehesten als peripherer Insulineffekt zu deuten. Eine Beeinflussung anderer beobachteter Effekte (s.u.) scheint aufgrund der geringen Ausprägung und kurzen Dauer der Veränderungen jedoch unwahrscheinlich.

Obwohl in den meisten bisherigen Studien mit i.n. Gabe von Humaninsulin (ohne Zusatz von Resorptionsverstärkern) keine entsprechenden Veränderungen feststellbar waren (11, 12, 21, 55, 57, 58, 79, 90, 135, 136), wurden in einigen Studien ähnliche Veränderungen der Insulin- und Glukosekonzentration im Sinne eines mutmaßlich peripheren Insulineffekts beobachtet (10, 15, 54, 62). Dabei scheint ein solcher peripher vermittelter Insulineffekt v.a. bei Verabreichung höherer i.n. Insulindosen (ab etwa 50–60 IE/10 Minuten) aufzutreten. In allen vier Studien mit entsprechenden Veränderungen wurde wie auch in der vorliegenden Untersuchung eine Dosis von 160 IE Insulin über einen Zeitraum von maximal 32 Minuten verabreicht. Allerdings gab es auch unter den zehn Studien ohne eindeutigen Nachweis eines peripheren Insulineffekts zwei Studien, die diesem Applikationsschema folgten (55, 90).

Neben den bisher beschriebenen Effekten führte die i.n. Insulingabe (im Vergleich zu Placebo) in der gesamten 1. NH zu einer Suppression der C-Peptid-Konzentrationen im Blut der Probanden und zeigte damit eine Reduktion der endogenen Insulinproduktion durch die i.n. Insulingabe an. Begleitend lagen in der Insulinbedingung die (grundlinienadjustierten) Insulinwerte deskriptiv unter denen der Placebobedingung. Dieser Unterschied verfehlte zwar das Signifikanzniveau, ließ sich aber für die 1. NH insgesamt und für einzelne Zeitpunkte v.a. der 1. NH zumindest als statistischer Trend nachweisen. Die Glukagon- und Glukosekonzentrationen zeigten sich hingegen (bis auf den oben beschriebenen, mutmaß-

lich peripher vermittelten Effekt auf den frühen BZ-Verlauf) von der i.n. Insulingabe nicht beeinflusst.

Dieses Muster einer reduzierten Insulinproduktion mit tendenziell verminderten Blutin-sulinspiegeln, jedoch ohne Anstieg der Blutglukosekonzentration, deutet auf eine Zunahme der blutzuckersenkenden Wirkung des Insulins in der Körperperipherie hin. Passend zu bisherigen Erkenntnissen aus Versuchen mit Nagetieren (118, 119, 128) unterstützt dieses Ergebnis die bisher gewonnene Auffassung, dass Insulin auf zentralnervöser Ebene zu einer Zunahme der systemischen Insulinsensitivität beitragen kann.

In drei Humanstudien, bei denen ebenfalls 160 IE Insulin i.n. verabreicht worden waren, wurden kürzlich ähnlich interpretierte Hinweise auf einen veränderten Glukosestoffwechsel am Tag gefunden (10, 59, 62). In der vorliegenden Studie zeigten sich entsprechende Hinweise nun für den Nachtschlaf (v.a. der 1. NH), der Phase im zirkadianen Rhythmus des Menschen, die in metabolischer Hinsicht unter den einheitlichsten (inter- und intraindividuellen) Bedingungen und fast vollständiger Abwesenheit akuter, äußerer Einflussfaktoren (z.B. Nahrungsaufnahme, körperliche Aktivität) abläuft. Die bedeutende Rolle des Nachtschlafs für den Metabolismus wurde vielfach gezeigt (s. Kap. 1.3).

Darüberhinaus waren auch nach dem Frühstück (08.45 Uhr) und am Abend nach der VN (18.00 Uhr) veränderte Glukose- und Hormonwerte nachweisbar, deren Muster dem des nächtlichen Insulineffekts ähnelte und die ebenfalls mit einer erhöhten Insulinsensitivität zu vereinbaren wären. Da die Versuchsbedingungen vor der abendlichen Blutentnahme weniger kontrolliert waren (die Probanden konnten tagsüber das Schlaflabor verlassen, s. Kap. 3.2) und nach dem Frühstück und am Abend jeweils nur eine Hormonbestimmung durchgeführt wurde, ist die Aussagekraft dieser Ergebnisse zwar eingeschränkt, dennoch unterstützt die postprandiale Nachweisbarkeit der Veränderungen die Vermutung, dass es sich um den gleichen Effekt handeln könnte, den auch Benedict und Hallschmid mit ihren jeweiligen Mitarbeitern beobachtet hatten (10, 59). Darüberhinaus kann die Nachweisbarkeit noch am Folgeabend zumindest als Hinweis gewertet werden, dass der beobachtete Effekt nach abendlicher i.n. Insulingabe u.U. sehr langanhaltend sein könnte.

Die für die Interpretation dieses Ergebnisses relevante Dauer der zentralnervösen Insulinwirkung nach i.n. Applikation wurde bisher in keiner Studie gezielt untersucht. Insofern erscheint zumindest die Abschätzung eines zeitlichen Rahmens für direkt vermittelte, zentralnervöse Insulineffekte anhand der Dauer der verursachten Insulinerhöhung im Liquor sinnvoll. Da die i.n. Gabe von 40 IE Insulin innerhalb von 30–40 Minuten zu einer Liquorinsulinerhöhung von 7 pmol/l (Grundlinienbedingungen) auf etwa 20 pmol/l führt (21),

könnte für die in der vorliegenden Studie verwendete Gabe von 160 IE (4-fache Dosis) spekuliert werden, dass die Insulinkonzentration im Liquor innerhalb eines ähnlichen Zeitraums (d.h. bis ungefähr 23.00 Uhr) auf maximal etwa 60 pmol/l (4-fache Erhöhung) angestiegen sein könnte. Geht man davon aus, dass der zentralnervöse Abbau von Insulin, wie aufgrund von Ergebnissen aus Tierversuchen zu vermuten ist, v.a. über die Liquorresorption stattfindet (97, 157), und bedenkt man den nachts generell etwas höheren Liquorumsatz (entspricht Liquorresorption) von etwa 0,6–0,7 ml/min beim Menschen (115, 116), der wiederum einer Halbwertszeit von etwa 120 Minuten entspricht (bei einer Liquorgesamtmenge von etwa 140 ml; 138), sollte die Insulinkonzentration im Liquor spätestens nach etwa 6 Stunden (3 Halbwertszeiten; d.h. gegen 05.00 Uhr) wieder das Ausgangsniveau erreicht haben, wobei bereits in den beiden vorangehenden Stunden (Liquorinsulinkonzentration etwa 15–7,5 pmol/l) mit einer Abschwächung der Effekte zu rechnen wäre. Dies passt sehr gut zu den in der vorliegenden Studie beobachteten nächtlichen Veränderungen der Hormonkonzentrationen, die v.a. in der 1. NH nachweisbar waren und am Übergang in die 2. NH nachließen, sodass hierfür eine direkt vermittelte, zentrale Insulinwirkung als Ursache gut vorstellbar ist. Das (nach zwischenzeitlichem Verschwinden) erneute Auftreten ähnlicher hormoneller Veränderungen etwa 10 Stunden (08.45 Uhr, d.h. nach dem Frühstück) bzw. 20 Stunden (18.00 Uhr, d.h. am Abend des Folgetages) nach Substanzgabe ist hingegen mit einer solchen Vermittlung eher nicht zu vereinbaren. Mögliche Erklärungen hierfür sind spekulativ und umfassen z.B. die höheren peripheren Insulinspiegel postprandial und im Tagesverlauf, die zu einem erneuten Anstieg der zentralen Insulinkonzentration und einer „Reaktivierung“ des Effekts führen könnten oder eine indirekt vermittelte, d.h. Insulin-induzierte, länger anhaltende Veränderung des Glukosemetabolismus, die später nur noch unter bestimmten Umständen (z.B. postprandiale Glukosebelastung) feststellbar ist. Daneben wäre – zumindest theoretisch – auch denkbar, dass ein Teil des i.n. verabreichten Insulins auf dem sehr viel langsameren, intraneuronalen Transportweg (entlang der Fila olfactoria) aus der Nasenhöhle ins ZNS gelangt ist und für das erneute, spätere Auftreten der Effekte verantwortlich gewesen sein könnte (70).

Die offensichtlichste Veränderung nach i.n. Insulingabe war eine früh beginnende und lang anhaltende Reduktion der C-Peptid-Konzentrationen während der Nacht. Dabei fiel der Beginn dieses Effektes um 22.59 Uhr zeitlich mit dem als peripheren Insulineffekt gedeuteten, kurzfristigen Abfall der Blutglukosekonzentration (s.o.) zusammen und könnte berechtigterweise auch in diesem Sinne als kompensatorische Reduktion der endogenen Insulinproduktion gewertet werden. Zwei frühere Studien, bei denen ebenfalls 160 IE Insulin

i.n. verabreicht wurden und deren Glukose- und Hormonwerte denen der vorliegenden Studie glichen bzw. ähnelten (Bestimmung bis maximal 60 Minuten nach Substanzgabe), deuteten die Ergebnisse dementsprechend auch als primär peripheren Insulineffekt (15, 54). Die Tatsache, dass in der vorliegenden Studie mit längerfristiger Bestimmung der Glukose- und Hormonwerte die Reduktion der C-Peptid-Konzentration aber noch mehr als 4 Stunden nach Substanzgabe eindeutig nachweisbar war (bis 02.40 Uhr), während die Erhöhung der Insulinspiegel und die Verminderung der BZ-Werte im Sinne des peripheren Insulineffekts nur sehr kurzfristig auftraten (um 22.31 Uhr bzw. 22.59 Uhr), deutet eine andere – zentralnervöse – Vermittlung dieses Effekts an. Insofern könnte die frühzeitige Verminderung der C-Peptid-Konzentration in den beiden genannten Untersuchungen (im Kontext mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie) auch als beginnender zentraler Insulineffekt aufgefasst werden. Es sei jedoch auch darauf hingewiesen, dass in zwei weiteren Studien mit i.n. Gabe von 160 IE Insulin keine signifikanten Veränderungen entsprechender Blutwerte (Glukose, Insulin, C-Peptid) auftraten (55, 90) und auch Studien mit langfristiger Insulingabe (4×40 IE Insulin tgl. über 8 Wochen) bisher keine Anzeichen für einen zentralnervösen Insulineinfluss auf die Glukosehomöostase zeigten (12, 57, 58). Allerdings galten alle diese Studien primär der Untersuchung anderer Zielparameter, so dass eventuell vorhandene, subtilere Veränderungen des Glukosemetabolismus im Rahmen der eher kontrollierenden Erhebung u.U. nicht nachweisbar wurden.

Die Vorgänge, die auf zellulärer Ebene dem in der vorliegenden Untersuchung beobachteten zentralnervösen Insulineffekt, d.h. der Steigerung der systemischen Insulinsensitivität, zugrunde liegen, können mit dem hier gewählten Studiendesign nicht aufgeklärt werden. In Tierversuchen konnten jedoch (mithilfe der pankreatischen Clamp-Technik) einige möglicherweise zugrunde liegende Prinzipien identifiziert werden (s. Kap. 1.2.2.2). Bei Nagetieren bewirkt die Aktivierung hypothalamischer Insulinrezeptoren eine Steigerung der hepatischen Insulinsensitivität und führt damit zu einer verminderten Glukoseproduktion der Leber, während die periphere Insulinsensitivität (insulinabhängige Glukoseaufnahme in Muskel- und Fettgewebe) nicht beeinflusst wird (118, 119). Dabei kommt es nur zu einer Verminderung der hepatischen Glukoneogenese (nicht aber der hepatischen Glykogenolyse) und die Übermittlung der entsprechenden Informationen vom ZNS an die Leber erfolgt mithilfe der efferenten Fasern des Nervus vagus (N. X; 128). Trotz widersprüchlicher Ergebnisse aus Versuchen mit Hunden (1, 30, 46, 132) sind beim Menschen kürzlich erste Hinweise auf möglicherweise ähnliche Zusammenhänge gefunden worden (84). So konnte gezeigt werden, dass Diazoxid, ein Aktivator des ATP-abhängigen K^+ -Kanals, über den

auf hypothalamischer Ebene der entsprechende zentrale Insulineffekt bei Nagetieren vermittelt wird (128), nach oraler Gabe beim Menschen (wie auch bei Ratten) zu einer Absenkung der endogenen Glukoseproduktion führt. Insofern wäre es durchaus denkbar, dass das i.n. verabreichte Insulin über die Aktivierung hypothalamischer ATP-abhängiger K^+ -Kanäle und den efferenten Anteil des Nervus vagus (N. X) zu einer erhöhten hepatischen Insulinsensitivität führt, die mit der Beobachtung einer verminderten Insulinproduktion bei unveränderten BZ-Konzentrationen vereinbar wäre. Da ein eindeutiger Nachweis dieses Mechanismus beim Menschen jedoch noch aussteht, bleibt diese Erklärung, wenn auch verlockend, letztlich nur spekulativ.

Ein statistisch eindeutiger geschlechtsspezifischer Insulineinfluss zeigte sich in der vorliegenden Studie für keinen der untersuchten Parameter. Dennoch passt die generell bessere Nachweisbarkeit veränderter Glukose- und Hormonspiegel (außer Leptin) bei den Männern gut zu bisherigen Untersuchungen, die eine stärkere metabolische Wirksamkeit von zentralnervösem Insulin beim männlichen Geschlecht nachweisen konnten (15, 33, 34, 58). Dieses zumindest als Hinweis auf eine geschlechtsabhängig modulierte, zentrale Insulinwirkung zu verstehende Ergebnis der vorliegenden Studie bestätigt die Auffassung, dass die in Untersuchungen mit Männern gewonnenen Erkenntnisse zur zentralnervösen Wirkung von Insulin nicht ohne Weiteres auf Frauen übertragbar sind.

5.2.2 Energiehomöostase: Leptin und Ghrelin

Für die grundlinienadjustierten Leptinwerte zeigte sich lediglich ein tendenziell signifikanter geschlechtsspezifischer Insulineinfluss, der auf eine nur bei den Frauen zu beobachtende tendenzielle Suppression der Leptinkonzentration durch die i.n. Insulingabe (am prominentesten um 22.31 Uhr, d.h. unmittelbar nach Substanzgabe) hinwies. Bemerkenswert ist dies insofern, als dass es sich um die einzige Veränderung der erhobenen Blutwerte handelt, die eher bei den Frauen als bei den Männern nachweisbar war. Eine schlüssige Erklärung für diesen angedeuteten Effekt gibt es jedoch nicht. Bisher waren nach akuter i.n. Gabe von 160 IE Insulin keine Veränderungen der Leptinkonzentrationen bei Frauen gefunden worden (15, 59, 90). Das sehr frühe Auftreten (und langsame Abklingen) der Leptinsuppression spricht eher gegen eine zentralnervöse Vermittlung und legt aufgrund der zeitlichen Koinzidenz vielmehr die als peripheren Insulineffekt gedeutete, erhöhte Insulinkonzentration um 22.31 Uhr als Ursache nahe. Allerdings war diese (im Gegensatz zur Leptinsuppression) stärker bei den Männern nachweisbar und Studien mit gesunden, nor-

malgewichtigen Teilnehmern beiderlei Geschlechts zeigen, dass eine akute, euglykämische Hyperinsulinämie bei diesen keinen wesentlichen Einfluss auf die Leptinspiegel hat (52, 86, 110, 144), sodass diese Erklärung insgesamt ebenfalls nicht schlüssig erscheint. Zumindest grundsätzlich wäre als Ursache für das Auftreten eines supprimierenden Effekts nur bei den Frauen aber denkbar, dass die generell deutlich niedrigeren Leptinspiegel bei den Männern (Frauen vs. Männer, $18,11 \pm 0,75$ vs. $3,51 \pm 0,18$ ng/ml, $p < 0,001$ [Placebo-bedingung]) eine weitere Reduktion erschwert haben könnten.

Auf die Ghrelinkonzentration hatte die i.n. Insulingabe in der vorliegenden Studie weder in der Gesamtgruppe noch bei Frauen und Männern getrennt einen eindeutigen Einfluss, sodass entsprechende bisherige Ergebnisse aus Studien mit weiblichen Versuchsteilnehmern (59, 90) bestätigt wurden. Bei den Männern deutete sich allerdings im Rahmen eines zumindest tendenziell signifikanten Insulineffekts eine Erhöhung der Ghrelinkonzentration während der Nacht (ab etwa 01.20 Uhr) an. Nach dem Frühstück (08.45 Uhr) und am Abend des Folgetages (18.00 Uhr) war sogar eine eindeutig erhöhte Ghrelinkonzentration bei den männlichen Probanden nachweisbar, wenn diese am Vorabend Insulin im Vergleich zu Placebo erhalten hatten. Im Tierversuch (mit männlichen Ratten) führte die zentrale Insulingabe hingegen zu einer Reduktion der peripheren Ghrelinkonzentration (177). Eine Ursache für diese widersprüchlichen Ergebnisse lässt sich letztlich nicht bestimmen. Aufgrund der den peripheren Insulineffekten entgegengesetzten Wirkung von Ghrelin (23) ließe sich für die vorliegende Studie mit dem ebenfalls v.a. bei den Männern veränderten Glukosemetabolismus lediglich spekulieren, dass die angedeutete Erhöhung der Ghrelinkonzentration (bzw. deren ausbleibende Reduktion) möglicherweise Ausdruck eines Gegenregulationsmechanismus sein könnte, um die erhöhte Insulinsensitivität (zumindest teilweise) zu kompensieren. Veränderungen der Nahrungsaufnahme oder des Nachtschlafs sind als Ursache jedenfalls weitgehend auszuschließen und auch eine Beeinflussung durch die erhöhten nächtlichen GH-Konzentrationen erscheint eher unwahrscheinlich (7).

5.2.3 HHN-Achse: ACTH und Cortisol

Auf die Konzentrationen von ACTH und Cortisol hatte die Substanzgabe (Insulin vs. Placebo) in der vorliegenden Untersuchung keinen globalen oder geschlechtsspezifischen Einfluss und zeigte damit ein übereinstimmendes Ergebnis zu bisherigen Studien mit akuter i.n. Gabe von 160 IE Insulin (15, 54, 59, 62). Demgegenüber ließ sich nach langfristiger i.n. Insulingabe in mehreren Studien eine Verminderung der morgendlichen HHN-Achsen-

Aktivität nachweisen (12, 57, 137). Die differierenden Ergebnisse scheinen dabei am ehesten durch die unterschiedliche Applikationsdauer (akut bzw. langfristig) bedingt zu sein. Allerdings kann unter bestimmten Umständen auch die akute i.n. Gabe von bereits 40 IE Insulin einen inhibitorischen Effekt auf die Hormonkonzentrationen der HHN-Achse ausüben (20, 57). Die abendliche Gabe von 160 IE Insulin i.n. konnte dies in der vorliegenden Studie jedoch nicht. Die genauen Mechanismen, die den unterschiedlichen Effekten zugrunde liegen, sind letztlich unklar und bedürfen weiterer systematischer Untersuchungen. Das Fehlen von insulinabhängigen Veränderungen der ACTH- und Cortisolkonzentration in der vorliegenden Studie schließt allerdings eine Vermittlung anderer beobachteter Effekte über einen Einfluss auf diese Hormone der HHN-Achse weitgehend aus.

5.2.4 Somatotrope Achse: GH

Der nach dem Einsetzen des Nachschlafs beginnende Anstieg der GH-Konzentration in der 1. NH wurde durch die i.n. Insulingabe deutlich verstärkt. Dies ging mit einer etwa 65 % höheren maximalen Hormonkonzentration und einer etwa 40 Minuten längeren Dauer des ersten nächtlichen GH-Gipfels einher. Ein eindeutiger geschlechtsspezifischer Insulineinfluss fand sich zwar nicht, dennoch war die Erhöhung der GH-Konzentration in der geschlechtergetrennten Auswertung nur bei den Männern signifikant, während sie bei den Frauen nicht eindeutig nachweisbar war. Dabei ist anzumerken, dass der Effekt insgesamt auf einem generell niedrigen GH-Niveau stattfand. Die maximale GH-Konzentration im Rahmen des schlafassoziierten Anstiegs erreichte in der Placebobedingung der vorliegenden Studie 5,5–6,5 µg/l (Gesamtgruppe, Frauen, Männer), während in anderen Studien 10–20 µg/l, insbesondere bei Männern, nicht ungewöhnlich sind (162, 185). Die Ursache könnte eine verminderte GH-Ausschüttung aufgrund eines generell etwas geringen SWS-Anteils ($\sim 16 \pm 1\%$, s. Tab. 2, S. 36; normal $\sim 20\%$, 180) sein (66, 181), der wiederum durch die ungewohnten Schlaflaborbedingungen und die daraus resultierende Verschiebung des Schlafprofils hin zu leichteren Schlafstadien zu erklären wäre.

Studien zur Untersuchung des zentralnervösen Insulineinflusses auf die Blutkonzentration von GH, GHRH und GHIH (Humanstudien mit i.n. Insulingabe und Tierversuche mit intrazerebroventrikulärer/intrazerebraler Insulingabe) sind bisher nicht publiziert worden. Bisherige Erkenntnisse stammen lediglich aus euglykämischen Clamp-Versuchen (wie z.B. 92), die keine Unterscheidung von peripheren und zentralen Insulineffekten erlauben und letztlich auch keine schlüssige Erklärung für die in dieser Studie nach i.n. Insulingabe

beobachteten GH-Veränderungen liefern. Da mithilfe der i.n. Insulingabe jedoch ausschließlich zentralnervöse Effekte untersucht werden, ist es durchaus denkbar, dass die hervorgerufene Verstärkung des zentralen Insulinsignals über einen möglicherweise noch unbekannten Mechanismus eine Erhöhung der GH-Ausschüttung verursacht hat. Dabei ist zu beachten, dass der schlafassoziierte GH-Anstieg, der im Rahmen der vorliegenden Studie durch die i.n. Insulingabe verstärkt wurde, primär der Steuerung durch hypothalamisches GHRH unterliegt (120), das wiederum v.a. im ARC gebildet wird (18), dem Kerngebiet also, das auch die erste hypothalamische Integrationsstation der metabolischen Insulinwirkung darstellt (s. Kap. 1.1.2). Insofern ist ein entsprechender Zusammenhang mit der i.n. Insulingabe, z.B. über einen Mechanismus, der in die hypothalamische GHRH-abhängige Steuerung der GH-Freisetzung eingreift, durchaus vorstellbar.

Eine Verursachung des GH-Anstiegs durch die Verminderung der BZ-Konzentration im Sinne des peripheren Insulineffekts scheint hingegen unwahrscheinlich. Zwar ist eine insulininduzierte Hypoglykämie ein potenter Stimulus der GH-Freisetzung (98, 139, 141), allerdings entsprach das beobachtete, geringfügige Absinken der BZ-Konzentration keiner Hypoglykämie, wie sie üblicherweise definiert wird ($BZ < 2,77 \text{ mmol/l}$ [50 mg/dl]; 63) und in den genannten Studien zur Untersuchung des Effekts eingesetzt wurde. Insofern ist es fraglich, ob die leichte Verminderung der BZ-Werte in der vorliegenden Studie überhaupt einen GH-Anstieg induzieren könnte. Außerdem führte die insulininduzierte Hypoglykämie, wenn sie kurz nach ihrem Auftreten durch eine Glukosegabe beendet wurde und dadurch, ähnlich wie in der vorliegenden Studie, nur von sehr kurzer Dauer war, nicht zu einem Anstieg der GH-Konzentration (141). Auch andere Einflussfaktoren auf die GH-Freisetzung wie das Nahrungsaufnahmeverhalten (117), die Schlaftiefe (183) und die Ghrelin-Konzentration im Blut (85, 111) sind aufgrund des Studiendesigns, der polysomnographischen Schlafregistrierung und der Hormonbestimmungen als Ursachen der vermehrten GH-Sekretion weitgehend ausgeschlossen.

Aufgrund der Tatsache, dass GH in vielfacher Hinsicht die Insulinsignalwege zur Regulation des Glukosemetabolismus beeinflusst (41), ist es auch denkbar, dass die verstärkte GH-Erhöhung einen körpereigenen Gegenregulationsmechanismus bzgl. der mutmaßlich gesteigerten Insulinsensitivität (s. Kap. 5.2.1) darstellen könnte. Da GH beim Menschen in ähnlichen Konzentrationen wie in der vorliegenden Studie (bei allerdings deutlich höheren Insulinspiegeln) nach 2–4 Stunden zu einer Reduktion der hepatischen und peripheren Insulinsensitivität führt (50, 102), wäre durch die gesteigerte GH-Konzentration in der 1. NH ein Nachlassen der Effekte auf den Glukosemetabolismus in der 2. NH zu erwarten.

Dies passt sehr gut zu den Beobachtungen der vorliegenden Studie. Darüberhinaus scheint der GH-Einfluss auf die Insulinsensitivität zeitlich begrenzt (50, 91), was den Umstand erklären könnte, dass die Effekte auf die C-Peptid- und Insulinkonzentrationen nach zwischenzeitlicher Abschwächung zu späteren Zeitpunkten (nach dem Frühstück [08.45 Uhr] und am Abend nach der VN [18.00 Uhr]) zumindest teilweise wieder nachweisbar wurden. Außerdem kann die Tatsache, dass auch der erhöhte GH-Anstieg (wie die Effekte auf den Glukosemetabolismus) eher bei den Männern als bei den Frauen zu beobachten war, als zumindest leichter, weiterer Hinweis auf einen Zusammenhang zwischen diesen Veränderungen gewertet werden. Dass umgekehrt der erhöhte GH-Anstieg für die Veränderungen der C-Peptid- und Insulinkonzentrationen ursächlich ist, scheint hingegen aufgrund der zeitlichen Abfolge der Effekte (Reduktion der C-Peptid-Konzentration bereits 60–80 Minuten vor Einsetzen der GH-Erhöhung) und einer dann genau umgekehrt zu erwartenden Wirkung (Anstieg von C-Peptid- und Insulinkonzentration aufgrund einer Verringerung der Insulinsensitivität durch GH) äußerst unwahrscheinlich.

5.3 Energiehaushalt und Hunger- und Durstgefühl

Der Ruheenergieumsatz am Morgen nach der VN blieb (sowohl in der Gesamtgruppe als auch bei Frauen und Männern getrennt) von der abendlichen i.n. Insulingabe unbeeinflusst. Dieses Ergebnis bestätigt bisherige Erkenntnisse, nach denen Insulin i.n. weder nach akuter Applikation (40 IE und 160 IE, jeweils direkt vor der morgendlichen Erhebung) noch nach langfristiger Gabe (160 IE/Tag, davon 40 IE unmittelbar vor dem Schlafengehen, auch am Vorabend der Messung) einen Einfluss auf den Ruheenergieumsatz hat (10, 57, 58). Mit dem Ergebnis der vorliegenden Studie lassen sich diese Erkenntnisse nun auf die einmalige, vorabendliche Gabe einer höheren Insulindosis (160 IE) ausweiten. Damit mehrten sich die Hinweise, dass eine Verstärkung des zentralnervösen Insulinsignals beim Menschen den Ruheenergieumsatz scheinbar nicht wesentlich beeinflusst. Aber auch im Tierversuch konnte bisher keine eindeutige Veränderung des Ruheenergieumsatzes im Rahmen der zentralen Insulingabe nachgewiesen werden. Die Thermogenese als wichtiger Teil des Gesamtenergieumsatzes scheint hingegen durch eine Verstärkung des zentralnervösen Insulinsignals stimuliert zu werden (142, 145).

Der in der vorliegenden Untersuchung nachweislich fehlende Insulineinfluss auf den Ruheenergieumsatz schließt eine hierüber vermittelte Beeinflussung anderer untersuchter Parameter, insbesondere der Nahrungsaufnahme, weitgehend aus. Die nahrungsinduzierte

Thermogenese, für die kürzlich ein steigender zentralnervöser Insulineinfluss (nach i.n. Gabe) bei Männern gezeigt werden konnte (10), wurde hingegen nicht untersucht.

Mithilfe des standardisierten Frühstücksbuffets ermittelte Energieaufnahme wurde durch die i.n. Insulingabe eindeutig reduziert. Dabei war insbesondere die Aufnahme von Kohlenhydraten vermindert, während die Verzehrmenen von Fetten und Proteinen nicht signifikant beeinflusst wurden. Der (prozentuale) Anteil der Kohlenhydrate an der Gesamtenergieaufnahme änderte sich dadurch jedoch nicht.

Die reduzierte Nahrungsaufnahme passt gut zu der im Tierversuch vielfach gezeigten anorexigenen Wirkung von Insulin im ZNS (s. Kap. 1.1.1) und bestätigt entsprechende Beobachtungen beim Menschen (s. Kap. 1.2.2.1). Allerdings wurde die verminderte Energieaufnahme nach akuter i.n. Insulingabe (160 IE) bisher v.a. bei Männern nachgewiesen (15), während dieser Effekt bei Frauen auf die postprandiale Gabe des Hormons und besonders schmackhafte Nahrungsmittel beschränkt war (59). Nach langfristiger i.n. Insulingabe (4×40 IE tgl. für 8 Wochen, Gabe vor den Hauptmahlzeiten und vor dem Schlafengehen) zeigte sich außerdem eine Verminderung des Körpergewichts nur bei Männern (58). Obwohl die Nahrungsaufnahme selber nicht untersucht wurde, entsprach diese Gewichtsabnahme (wenn sie allein auf ein reduziertes Essverhalten zurückzuführen wäre) erstaunlich genau einer kumulierten täglichen Reduktion der Energieaufnahme, wie sie Benedict und Mitarbeiter (15) später nach akuter i.n. Insulingabe beobachtet haben. Dieser Geschlechtsunterschied der anorexigenen zentralen Insulinwirkung zeigte sich auch im Tierversuch (34) und konnte hier auf die Wirkung der Östrogene zurückgeführt werden (33). Beim Menschen scheint dieser Mechanismus jedoch eine geringere Bedeutung zu haben (90), wobei einige Störfaktoren (aufgrund der eingeschränkten Untersuchungsmöglichkeiten in Humanstudien) die Aussagekraft der entsprechenden Studie beeinträchtigen.

Überraschenderweise zeigte sich der anorexigene Insulineffekt in der vorliegenden Untersuchung ohne eindeutigen Geschlechtsunterschied und war in der (explorativen) geschlechtergetrennten Auswertung sogar nur bei den Frauen eindeutig nachweisbar. Eine Erklärung für die deutlichen Unterschiede zur Studie von Benedict und Mitarbeitern (15) könnte die wesentlich längere Dauer zwischen Insulingabe und Untersuchung der Nahrungsaufnahme sein (600 vs. 80 Minuten). Dabei erscheint es grundsätzlich eher unwahrscheinlich, dass 10 Stunden nach Substanzgabe überhaupt noch ein direkt vermittelter, zentralnervöser Insulineffekt vorhanden sein könnte (s. Kap. 5.2.1), sodass die Ursache für die reduzierte Nahrungsaufnahme beim Testfrühstück am ehesten im mutmaßlich länger anhaltend veränderten Glukosemetabolismus (s. Kap. 5.2.1) zu suchen ist. Dabei wäre z.B.

eine verzögert einsetzende Steigerung der zentralen Insulinsensitivität als Folge der mit niedrigeren Insulinspiegeln einhergehenden, gesteigerten peripheren Insulinsensitivität denkbar, da dies zu einer stärkeren Hemmung der Nahrungsaufnahme führen könnte. Allerdings sind die Veränderungen des Glukosemetabolismus in der vorliegenden Studie v.a. bei den Männern nachweisbar gewesen, während die reduzierte Nahrungsaufnahme v.a. bei den Frauen zu beobachten war.

Geht man hingegen davon aus, dass – aufgrund eines bisher möglicherweise unbekannten Mechanismus – der anorexigene Insulineffekt ausreichend lang anhalten kann, um die beobachtete Reduktion der Nahrungsaufnahme zu verursachen (z.B. aufgrund einer indirekten, zentralnervösen Vermittlung), wäre auch denkbar, dass es sich um einen grundsätzlich bei beiden Geschlechtern vorhandenen Effekt handelt, der mit den ebenfalls beobachteten hormonellen Veränderungen interferiert und dadurch zu unterschiedlichen Zeitpunkten (zumindest teilweise) kompensiert wird. Dabei könnte die beobachtete, frühe Suppression der Leptinkonzentration bei den Frauen den anorexigenen Insulineffekt bei diesen zu frühen Untersuchungszeitpunkten (80 Minuten nach i.n. Gabe) abschwächen, während die erst etwa 90–120 Minuten nach Substanzgabe einsetzenden GH- und Ghrelin-Erhöhen bei den Männern den anorexigenen Insulineffekt bei diesen für späte Untersuchungszeitpunkte mindern würde (19, 193), sodass die differierenden Studienergebnisse miteinander in Einklang zu bringen wären. Auch dieser Ansatz ist jedoch letztlich nicht schlüssig, da sich in der Studie von Benedict und Mitarbeitern (15) die Leptinspiegel nicht signifikant unterschieden und in der vorliegenden Untersuchung die nächtlichen GH- und Ghrelin-Erhöhen vor dem Frühstück (07.55 Uhr) nicht mehr eindeutig nachweisbar waren.

Desweiteren ist auch eine zweite, verzögerte „Anflutung“ des Insulins im ZNS durch den wesentlich länger dauernden Transport auf dem intraneuronalen Weg (s. Kap. 1.2.1.2) theoretisch denkbar. Diese Annahme würde zumindest die späte Nachweisbarkeit des anorexigenen Insulineffekts erklären, für die Beobachtung v.a. bei den Frauen liefert sie jedoch ebenfalls keine schlüssige Erklärung.

Unabhängig von diesen Spekulationen zu den zugrundeliegenden Mechanismen zeigt der in der vorliegenden Studie nicht signifikant veränderte Anteil der Makronährstoffe an der Gesamtenergieaufnahme in Übereinstimmung mit Ergebnissen bisheriger Untersuchungen (15, 90), dass die Nahrungszusammensetzung beim Menschen scheinbar nicht wesentlich durch die zentralnervöse Insulinwirkung beeinflusst wird.

Das Hungergefühl der Probanden wurde in der vorliegenden Untersuchung, wie in bisherigen Studien (15, 90), nicht signifikant durch die akute i.n. Insulingabe beeinflusst, insbe-

sondere nicht am Morgen vor dem Testfrühstück. Auch nach langfristiger i.n. Insulingabe zeigte sich bisher nur in einer Studie ein reduziertes Hungergefühl, das jedoch von einer Gewichts- und Leptinreduktion begleitet war (58).

Das Durstgefühl war in der vorliegenden Studie lediglich bei den Männern unmittelbar nach der Insulingabe vermindert. Ein Einfluss auf das Frühstück am Folgemorgen ist aufgrund des zeitlichen Abstands und des (zwischen der Insulin- und Placebobedingung) wieder vergleichbaren Durstgefühls unmittelbar vor dem Frühstück jedoch unwahrscheinlich. Eine entsprechende Insulinwirkung nach i.n. Gabe wurde bisher nicht berichtet.

5.4 Kreislaufparameter und generelles Wohlbefinden

Die (kontrollierende) Erhebung der Kreislaufparameter (Herzfrequenz und Blutdruck) zeigte in der vorliegenden Studie keine wesentlichen Veränderungen. Dagegen hatte die bisher einzige systematische Untersuchung von Herzfrequenz und Blutdruck nach i.n. Insulingabe für die akute Applikation einen signifikanten Anstieg des Blutdrucks (ohne Veränderung der Herzfrequenz) gezeigt (allerdings erst nach insgesamt 240 IE Insulin über 110 Minuten), der bei langfristiger Gabe jedoch nicht mehr nachweisbar war (11). Außerdem wurde in zwei weiteren Studien von leicht erhöhten Blutdruckwerten (akut) und einer fraglich veränderten Herzfrequenz (langfristig) nach i.n. Insulingabe berichtet (57, 58). Eine eindeutige Ursache für die unterschiedlichen Ergebnisse lässt sich aufgrund der stark differierenden Versuchsabläufe jedoch nicht bestimmen.

Das generelle Wohlbefinden der Probanden unterschied sich in der vorliegenden Studie nicht zwischen der Insulin- und Placebobedingung, obwohl in bisherigen Untersuchungen sowohl nach akuter als auch nach langfristiger i.n. Insulingabe eine generell bessere Stimmung der Versuchsteilnehmer gezeigt werden konnte (12, 79). Während der Effekt in diesen Studien jedoch durch die sehr viel differenziertere Befindlichkeitserhebung mithilfe der EWL nachgewiesen wurde, sind in der vorliegenden Untersuchung lediglich die allgemeineren Dimensionen des MDBF-A (gute/schlechte Stimmung) und der VAS (generelles Wohlbefinden) ausgewertet worden (s. Kap. 4.4.2), was die unterschiedlichen Ergebnisse erklären könnte. Auch der große zeitliche Abstand zwischen der zweiten (22.35 Uhr) und dritten (08.05 Uhr) Befindlichkeitserhebung (aufgrund des dazwischenliegenden Nachschlafs) könnte zur Folge gehabt haben, dass ein entsprechender Effekt, falls er in diesen Zeitraum fiel, in der vorliegenden Studie nicht nachweisbar wurde.

6. Zusammenfassung

Zentralnervöse Insulineffekte und der Nachtschlaf spielen beim Menschen eine wichtige, teilweise geschlechtsspezifische Rolle in der Steuerung von Energiehomöostase (Nahrungsaufnahme, Körpergewicht, Energieumsatz) und Glukosestoffwechsel. Mithilfe der intranasalen (i.n.) Insulingabe, einer bewährten Methode zur Untersuchung zentralnervöser Insulineffekte, erfolgte in der vorliegenden Studie die Ermittlung des zentralnervösen Insulineinflusses auf den Nachtschlaf und assoziierte Parameter von Energiehomöostase und Glukosemetabolismus beim Menschen.

Dazu wurde an 32 normalgewichtigen, gesunden Erwachsenen (16 Frauen, 16 Männer) untersucht, ob die einmalige i.n. Applikation von 160 IE Humaninsulin am Abend Einfluss auf den Nachtschlaf, die nächtlichen Blutkonzentrationen von Glukose und metabolisch relevanten Hormonen (Insulin, C-Peptid, Glukagon, Leptin, Ghrelin, ACTH, Cortisol, GH) sowie den Ruheenergieumsatz und die Nahrungsaufnahme am Folgemorgen hat und ob es diesbezüglich Geschlechtsunterschiede gibt. Es zeigte sich, dass die i.n. Insulingabe keine wesentlichen Veränderungen des Nachtschlafs (Schlafdauer, Dauer der einzelnen Schlafstadien, Bewegungen im Schlaf, SWS-Latenz, REM-Latenz, subjektive Schlafqualität) verursachte, jedoch in der 1. Nachthälfte mit signifikant reduzierten C-Peptid- und tendenziell verminderten Blutinsulinkonzentrationen einherging (ohne Erhöhung der Blutglukosekonzentration) und eine Zunahme des schlafassoziierten GH-Anstiegs in der 1. Nachthälfte hervorrief. Außerdem wurde durch die abendliche i.n. Insulingabe die Nahrungsaufnahme am Folgemorgen reduziert. Obwohl sich keine eindeutig geschlechtsspezifischen Insulineffekte zeigten, waren in der geschlechtergetrennten Betrachtung die Veränderungen der Hormonkonzentrationen v.a. bei den Männern und die reduzierte Nahrungsaufnahme v.a. bei den Frauen zu beobachten.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die zentralnervöse Gabe von Insulin beim Menschen die systemische Insulinsensitivität steigert, und belegen eine anorexigene Insulinwirkung bei Frauen. Auf den polysomnographisch charakterisierten Nachtschlaf hat eine Verstärkung des zentralnervösen Insulinsignals offenbar keinen unmittelbaren Einfluss. Die primäre Insulinwirkung auf schlafassoziierte metabolische Parameter scheint bis zu 4 Stunden nach i.n. Gabe anzuhalten, zum Teil können Effekte jedoch auch noch deutlich später nachgewiesen werden. Die Wirkung der zentralnervösen Insulingabe auf die Insulinsensitivität beim Menschen entspricht Ergebnissen aus Studien mit Nagetieren und könnte für die Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 von Bedeutung sein.

Literaturverzeichnis

1. **Agarwala GC, Mittal RK, Bapat SK, Bhardwaj UR:** Effect of centrally administered insulin on blood glucose levels in dogs. *Indian J Physiol Pharmacol* 21:11-18 (1977).
2. **Air EL, Benoit SC, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC:** Insulin and leptin combine additively to reduce food intake and body weight in rats. *Endocrinology* 143:2449-2452 (2002).
3. **Bagdade JD, Bierman EL, Porte D, Jr.:** The significance of basal insulin levels in the evaluation of the insulin response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects. *J Clin Invest* 46:1549-1557 (1967).
4. **Balin BJ, Broadwell RD, Salcman M, el-Kalliny M:** Avenues for entry of peripherally administered protein to the central nervous system in mouse, rat, and squirrel monkey. *J Comp Neurol* 251:260-280 (1986).
5. **Banauch D, Brummer W, Ebeling W, Metz H, Rindfrey H, Lang H, Leybold K, Rick W, Staudinger HJ:** Eine Glucose-Dehydrogenase für die Glucose-Bestimmung in Körperflüssigkeiten. *Z Klin Chem Klin Biochem* 13:101-107 (1975).
6. **Banks WA:** The source of cerebral insulin. *Eur J Pharmacol* 490:5-12 (2004).
7. **Barkan AL, Dimaraki EV, Jessup SK, Symons KV, Ermolenko M, Jaffe CA:** Ghrelin secretion in humans is sexually dimorphic, suppressed by somatostatin, and not affected by the ambient growth hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab* 88:2180-2184 (2003).
8. **Baskin DG, Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC, Porte D, Jr., Breininger JF, Jonak Z, Schaefer J, Krouse M, Burghardt C, Campfield LA, Burn P, Kochan JP:** Leptin receptor long-form splice-variant protein expression in neuron cell bodies of the brain and co-localization with neuropeptide Y mRNA in the arcuate nucleus. *J Histochem Cytochem* 47:353-362 (1999).
9. **Baura GD, Foster DM, Porte D, Jr., Kahn SE, Bergman RN, Cobelli C, Schwartz MW:** Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. *J Clin Invest* 92:1824-1830 (1993).
10. **Benedict C, Brede S, Schioth HB, Lehnert H, Schultes B, Born J, Hallschmid M:** Intranasal insulin enhances postprandial thermogenesis and lowers postprandial serum insulin levels in healthy men. *Diabetes* 60:114-118 (2011).
11. **Benedict C, Dodt C, Hallschmid M, Lepiorz M, Fehm HL, Born J, Kern W:** Immediate but not long-term intranasal administration of insulin raises blood pressure in human beings. *Metabolism* 54:1356-1361 (2005).
12. **Benedict C, Hallschmid M, Hatke A, Schultes B, Fehm HL, Born J, Kern W:** Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology* 29:1326-1334 (2004).
13. **Benedict C, Hallschmid M, Lassen A, Mahnke C, Schultes B, Schioth HB, Born J, Lange T:** Acute sleep deprivation reduces energy expenditure in healthy men. *Am J Clin Nutr* 93:1229-1236 (2011).

14. **Benedict C, Hallschmid M, Schultes B, Born J, Kern W:** Intranasal insulin to improve memory function in humans. *Neuroendocrinology* 86:136-142 (2007).
15. **Benedict C, Kern W, Schultes B, Born J, Hallschmid M:** Differential sensitivity of men and women to anorexigenic and memory-improving effects of intranasal insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 93:1339-1344 (2008).
16. **Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC:** The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *J Neurosci* 22:9048-9052 (2002).
17. **Billington CJ, Briggs JE, Grace M, Levine AS:** Effects of intracerebroventricular injection of neuropeptide Y on energy metabolism. *Am J Physiol* 260:R321-327 (1991).
18. **Bluet-Pajot MT, Epelbaum J, Gourdji D, Hammond C, Kordon C:** Hypothalamic and hypophyseal regulation of growth hormone secretion. *Cell Mol Neurobiol* 18:101-123 (1998).
19. **Bohlooly YM, Olsson B, Bruder CE, Linden D, Sjogren K, Bjursell M, Egecioglu E, Svensson L, Brodin P, Waterton JC, Isaksson OG, Sundler F, Ahren B, Ohlsson C, Oscarsson J, Tornell J:** Growth hormone overexpression in the central nervous system results in hyperphagia-induced obesity associated with insulin resistance and dyslipidemia. *Diabetes* 54:51-62 (2005).
20. **Bohringer A, Schwabe L, Richter S, Schachinger H:** Intranasal insulin attenuates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to psychosocial stress. *Psychoneuroendocrinology* 33:1394-1400 (2008).
21. **Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL:** Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain. *Nat Neurosci* 5:514-516 (2002).
22. **Bosy-Westphal A, Hinrichs S, Jauch-Chara K, Hitze B, Later W, Wilms B, Settler U, Peters A, Kiosz D, Muller MJ:** Influence of partial sleep deprivation on energy balance and insulin sensitivity in healthy women. *Obes Facts* 1:266-273 (2008).
23. **Briggs DI, Andrews ZB:** A recent update on the role of ghrelin in glucose homeostasis. *Curr Diabetes Rev* 7:201-207 (2011).
24. **Brondel L, Romer MA, Nougues PM, Touyarou P, Davenne D:** Acute partial sleep deprivation increases food intake in healthy men. *Am J Clin Nutr* 91:1550-1559 (2010).
25. **Brüning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Muller-Wieland D, Kahn CR:** Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 289:2122-2125 (2000).
26. **Buxton OM, Pavlova M, Reid EW, Wang W, Simonson DC, Adler GK:** Sleep restriction for 1 week reduces insulin sensitivity in healthy men. *Diabetes* 59:2126-2133 (2010).
27. **Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P:** Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 269:546-549 (1995).

28. **Chaput JP, Despres JP, Bouchard C, Tremblay A:** Short sleep duration is associated with reduced leptin levels and increased adiposity: Results from the Quebec family study. *Obesity (Silver Spring)* 15:253-261 (2007).
29. **Cheung CC, Clifton DK, Steiner RA:** Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* 138:4489-4492 (1997).
30. **Chowers I, Lavy S, Halpern L:** Effect of insulin administered intracisternally on the glucose level of the blood and the cerebrospinal fluid in vagotomized dogs. *Exp Neurol* 14:383-389 (1966).
31. **Chretien M, Seidah NG:** Chemistry and biosynthesis of pro-opiomelanocortin. ACTH, MSH's, endorphins and their related peptides. *Mol Cell Biochem* 34:101-127 (1981).
32. **Chrousos GP:** The role of stress and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the pathogenesis of the metabolic syndrome: neuro-endocrine and target tissue-related causes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24 Suppl 2:S50-55 (2000).
33. **Clegg DJ, Brown LM, Woods SC, Benoit SC:** Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes* 55:978-987 (2006).
34. **Clegg DJ, Riedy CA, Smith KA, Benoit SC, Woods SC:** Differential sensitivity to central leptin and insulin in male and female rats. *Diabetes* 52:682-687 (2003).
35. **Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, et al.:** Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334:292-295 (1996).
36. **Cowley MA, Smart JL, Rubinstein M, Cerdan MG, Diano S, Horvath TL, Cone RD, Low MJ:** Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus. *Nature* 411:480-484 (2001).
37. **Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS:** A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 50:1714-1719 (2001).
38. **Danguir J:** Sleep deficits in diabetic rats: restoration following chronic intravenous or intracerebroventricular infusions of insulin. *Brain Res Bull* 12:641-645 (1984).
39. **Danguir J, Nicolaidis S:** Chronic intracerebroventricular infusion of insulin causes selective increase of slow wave sleep in rats. *Brain Res* 306:97-103 (1984).
40. **Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, Matsukura S, Kangawa K, Nakazato M:** Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. *Endocrinology* 141:4255-4261 (2000).
41. **Dominici FP, Argentino DP, Munoz MC, Miquet JG, Sotelo AI, Turyn D:** Influence of the crosstalk between growth hormone and insulin signalling on the modulation of insulin sensitivity. *Growth Horm IGF Res* 15:324-336 (2005).

42. **Donato J, Jr., Frazao R, Elias CF:** The PI3K signaling pathway mediates the biological effects of leptin. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 54:591-602 (2010).
43. **Donga E, van Dijk M, van Dijk JG, Biermasz NR, Lammers GJ, van Kralingen KW, Corssmit EP, Romijn JA:** A single night of partial sleep deprivation induces insulin resistance in multiple metabolic pathways in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 95:2963-2968 (2010).
44. **Douglass J, McKinzie AA, Couceyro P:** PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. *J Neurosci* 15:2471-2481 (1995).
45. **Dzaja A, Dalal MA, Himmerich H, Uhr M, Pollmacher T, Schuld A:** Sleep enhances nocturnal plasma ghrelin levels in healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E963-967 (2004).
46. **Edgerton DS, Lautz M, Scott M, Everett CA, Stettler KM, Neal DW, Chu CA, Cherrington AD:** Insulin's direct effects on the liver dominate the control of hepatic glucose production. *J Clin Invest* 116:521-527 (2006).
47. **Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hruby VJ, Cone RD:** Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature* 385:165-168 (1997).
48. **Fehm HL, Smolnik R, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Born J:** The melanocortin melanocyte-stimulating hormone/adrenocorticotropin(4-10) decreases body fat in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:1144-1148 (2001).
49. **Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, Friedman JM:** Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:7001-7005 (1997).
50. **Fowelin J, Attvall S, von Schenck H, Smith U, Lager I:** Characterization of the insulin-antagonistic effect of growth hormone in man. *Diabetologia* 34:500-506 (1991).
51. **Gerald C, Walker MW, Criscione L, Gustafson EL, Batzl-Hartmann C, Smith KE, Vaysse P, Durkin MM, Laz TM, Linemeyer DL, Schaffhauser AO, Whitebread S, Hofbauer KG, Taber RI, Branchek TA, Weinshank RL:** A receptor subtype involved in neuropeptide-Y-induced food intake. *Nature* 382:168-171 (1996).
52. **Gonzalez-Ortiz M, Martinez-Abundis E, Mora-Martinez JM:** Acute effect of physiologic hyperinsulinaemia on serum leptin concentration in healthy young people. *Acta Diabetol* 37:83-86 (2000).
53. **Guilleminault C, Powell NB, Martinez S, Kushida C, Raffray T, Palombini L, Philip P:** Preliminary observations on the effects of sleep time in a sleep restriction paradigm. *Sleep Med* 4:177-184 (2003).
54. **Guthoff M, Grichisch Y, Canova C, Tschritter O, Veit R, Hallschmid M, Haring HU, Preissl H, Hennige AM, Fritsche A:** Insulin modulates food-related activity in the central nervous system. *J Clin Endocrinol Metab* 95:748-755 (2010).

55. **Guthoff M, Stingl KT, Tschritter O, Rogic M, Heni M, Stingl K, Hallschmid M, Haring HU, Fritsche A, Preissl H, Hennige AM:** The insulin-mediated modulation of visually evoked magnetic fields is reduced in obese subjects. *PLoS One* 6:e19482 (2011).
56. **Hallschmid M, Benedict C, Born J, Kern W:** Targeting metabolic and cognitive pathways of the CNS by intranasal insulin administration. *Expert Opin Drug Deliv* 4:319-322 (2007).
57. **Hallschmid M, Benedict C, Schultes B, Born J, Kern W:** Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. *Int J Obes (Lond)* 32:275-282 (2008).
58. **Hallschmid M, Benedict C, Schultes B, Fehm HL, Born J, Kern W:** Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women. *Diabetes* 53:3024-3029 (2004).
59. **Hallschmid M, Higgs S, Thienel M, Ott V, Lehnert H:** Postprandial Administration of Intranasal Insulin Intensifies Satiety and Reduces Intake of Palatable Snacks in Women. *Diabetes* (2012).
60. **Havel PJ, Townsend R, Chaump L, Teff K:** High-fat meals reduce 24-h circulating leptin concentrations in women. *Diabetes* 48:334-341 (1999).
61. **Hayes AL, Xu F, Babineau D, Patel SR:** Sleep duration and circulating adipokine levels. *Sleep* 34:147-152 (2011).
62. **Heni M, Kullmann S, Ketterer C, Guthoff M, Linder K, Wagner R, Stingl KT, Veit R, Staiger H, Haring HU, Preissl H, Fritsche A:** Nasal insulin changes peripheral insulin sensitivity simultaneously with altered activity in homeostatic and reward-related human brain regions. *Diabetologia* (2012).
63. **Herold G:** Hypoglykämie und hypoglykämisches Koma. In: Innere Medizin. S. 725, G. Herold (Selbstverlag), Köln (2012).
64. **Hetherington AW, Ranson SW:** Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat Rec* 78:149-172 (1940).
65. **Hoddes E, Dement W, Zarcone V:** The development and use of the Stanford Sleepiness Scale (SSS). *Psychophysiology* 9:150 (1972).
66. **Holl RW, Hartman ML, Veldhuis JD, Taylor WM, Thorner MO:** Thirty-second sampling of plasma growth hormone in man: correlation with sleep stages. *J Clin Endocrinol Metab* 72:854-861 (1991).
67. **Hukshorn CJ, Saris WH:** Leptin and energy expenditure. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 7:629-633 (2004).
68. **Hwa JJ, Fawzi AB, Graziano MP, Ghibaudi L, Williams P, Van Heek M, Davis H, Rudinski M, Sybertz E, Strader CD:** Leptin increases energy expenditure and selectively promotes fat metabolism in ob/ob mice. *Am J Physiol* 272:R1204-1209 (1997).
69. **Ikeda H, West DB, Pustek JJ, Figlewicz DP, Greenwood MR, Porte D, Jr., Woods SC:** Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats. *Appetite* 7:381-386 (1986).

70. **Illum L:** Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system. *Eur J Pharm Sci* 11:1-18 (2000).
71. **Jaffe CA, Turgeon DK, Friberg RD, Watkins PB, Barkan AL:** Nocturnal augmentation of growth hormone (GH) secretion is preserved during repetitive bolus administration of GH-releasing hormone: potential involvement of endogenous somatostatin--a clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 80:3321-3326 (1995).
72. **Janke W, Debus G:** Die Eigenschaftswörterliste (EWL). Handanweisung. Hogrefe, Göttingen (1978).
73. **Jauch-Chara K, Hallschmid M, Schmid SM, Oltmanns KM, Peters A, Born J, Schultes B:** Plasma glucagon decreases during night-time sleep in Type 1 diabetic patients and healthy control subjects. *Diabet Med* 24:684-687 (2007).
74. **Jauch-Chara K, Schmid SM, Hallschmid M, Born J, Schultes B:** Altered neuroendocrine sleep architecture in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 31:1183-1188 (2008).
75. **Jennings JR, Muldoon MF, Hall M, Buysse DJ, Manuck SB:** Self-reported sleep quality is associated with the metabolic syndrome. *Sleep* 30:219-223 (2007).
76. **Kaiyala KJ, Prigeon RL, Kahn SE, Woods SC, Schwartz MW:** Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes* 49:1525-1533 (2000).
77. **Kennedy GC:** The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 140:578-596 (1953).
78. **Kern W, Benedict C, Schultes B, Plohr F, Moser A, Born J, Fehm HL, Hallschmid M:** Low cerebrospinal fluid insulin levels in obese humans. *Diabetologia* 49:2790-2792 (2006).
79. **Kern W, Born J, Schreiber H, Fehm HL:** Central nervous system effects of intranasally administered insulin during euglycemia in men. *Diabetes* 48:557-563 (1999).
80. **Kern W, Dodt C, Born J, Fehm HL:** Changes in cortisol and growth hormone secretion during nocturnal sleep in the course of aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 51:M3-9 (1996).
81. **Kern W, Offenheuser S, Born J, Fehm HL:** Entrainment of ultradian oscillations in the secretion of insulin and glucagon to the nonrapid eye movement/rapid eye movement sleep rhythm in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1541-1547 (1996).
82. **Kern W, Peters A, Fruehwald-Schultes B, Deininger E, Born J, Fehm HL:** Improving influence of insulin on cognitive functions in humans. *Neuroendocrinology* 74:270-280 (2001).
83. **Kim EM, Grace MK, Welch CC, Billington CJ, Levine AS:** STZ-induced diabetes decreases and insulin normalizes POMC mRNA in arcuate nucleus and pituitary in rats. *Am J Physiol* 276:R1320-1326 (1999).
84. **Kishore P, Boucai L, Zhang K, Li W, Koppaka S, Kehlenbrink S, Schiwiek A, Esterson YB, Mehta D, Bursheh S, Su Y, Gutierrez-Juarez R, Muzumdar R, Schwartz GJ, Hawkins M:** Activation of K(ATP) channels suppresses glucose production in humans. *J Clin Invest* 121:4916-4920 (2011).

85. **Kluge M, Schussler P, Zuber V, Kleyer S, Yassouridis A, Dresler M, Uhr M, Steiger A:** Ghrelin enhances the nocturnal secretion of cortisol and growth hormone in young females without influencing sleep. *Psychoneuroendocrinology* 32:1079-1085 (2007).
86. **Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, Boden G, Nolan JJ, Henry R, Mudaliar SR, Olefsky J, Caro JF:** Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans: Studies in vivo and in vitro. *Diabetes* 45:699-701 (1996).
87. **Könner AC, Klöckener T, Brüning JC:** Control of energy homeostasis by insulin and leptin: targeting the arcuate nucleus and beyond. *Physiol Behav* 97:632-638 (2009).
88. **Koylu EO, Couceyro PR, Lambert PD, Ling NC, DeSouza EB, Kuhar MJ:** Immunohistochemical localization of novel CART peptides in rat hypothalamus, pituitary and adrenal gland. *J Neuroendocrinol* 9:823-833 (1997).
89. **Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S:** Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nature* 393:72-76 (1998).
90. **Krug R, Benedict C, Born J, Hallschmid M:** Comparable sensitivity of postmenopausal and young women to the effects of intranasal insulin on food intake and working memory. *J Clin Endocrinol Metab* 95:E468-472 (2010).
91. **Krusenstjerna-Hafstrom T, Clasen BF, Moller N, Jessen N, Pedersen SB, Christiansen JS, Jorgensen JO:** Growth hormone (GH)-induced insulin resistance is rapidly reversible: an experimental study in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab* 96:2548-2557 (2011).
92. **Lanzi R, Manzoni MF, Andreotti AC, Malighetti ME, Bianchi E, Sereni LP, Caumo A, Luzi L, Pontiroli AE:** Evidence for an inhibitory effect of physiological levels of insulin on the growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2239-2243 (1997).
93. **Leprout R, Copinschi G, Buxton O, Van Cauter E:** Sleep loss results in an elevation of cortisol levels the next evening. *Sleep* 20:865-870 (1997).
94. **Leprout R, Van Cauter E:** Role of sleep and sleep loss in hormonal release and metabolism. *Endocr Dev* 17:11-21 (2010).
95. **Levine JA:** Non-exercise activity thermogenesis (NEAT). *Nutr Rev* 62:S82-97 (2004).
96. **Lin HV, Plum L, Ono H, Gutierrez-Juarez R, Shanabrough M, Borok E, Horvath TL, Rossetti L, Accili D:** Divergent regulation of energy expenditure and hepatic glucose production by insulin receptor in agouti-related protein and POMC neurons. *Diabetes* 59:337-346 (2010).
97. **Manin M, Broer Y, Balage M, Rostene W, Grizard J:** Metabolic clearance of insulin from the cerebrospinal fluid in the anesthetized rat. *Peptides* 11:5-12 (1990).
98. **Masuda A, Shibasaki T, Hotta M, Yamauchi N, Ling N, Demura H, Shizume K:** Insulin-induced hypoglycemia, L-dopa and arginine stimulate GH secretion through different mechanisms in man. *Regul Pept* 31:53-64 (1990).

99. **Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N, Satoh N, Okazaki T, Shigemoto M, Mori K, Tamura N, Hosoda K, Yoshimasa Y, et al.:** Human obese gene expression. Adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue. *Diabetes* 44:855-858 (1995).
100. **Mathers CD, Boerma T, Ma Fat D:** Global and regional causes of death. *Br Med Bull* 92:7-32 (2009).
101. **McNay EC, Recknagel AK:** Brain insulin signaling: a key component of cognitive processes and a potential basis for cognitive impairment in type 2 diabetes. *Neurobiol Learn Mem* 96:432-442 (2011).
102. **Moller N, Butler PC, Antsiferov MA, Alberti KG:** Effects of growth hormone on insulin sensitivity and forearm metabolism in normal man. *Diabetologia* 32:105-110 (1989).
103. **Moller N, Jorgensen JO:** Effects of growth hormone on glucose, lipid, and protein metabolism in human subjects. *Endocr Rev* 30:152-177 (2009).
104. **Morselli L, Leproult R, Balbo M, Spiegel K:** Role of sleep duration in the regulation of glucose metabolism and appetite. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 24:687-702 (2010).
105. **Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW:** Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature* 443:289-295 (2006).
106. **Morton GJ, Schwartz MW:** The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25 Suppl 5:S56-62 (2001).
107. **Mountjoy KG, Mortrud MT, Low MJ, Simerly RB, Cone RD:** Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol Endocrinol* 8:1298-1308 (1994).
108. **Mountjoy PD, Rutter GA:** Glucose sensing by hypothalamic neurones and pancreatic islet cells: AMPle evidence for common mechanisms? *Exp Physiol* 92:311-319 (2007).
109. **Mueller WM, Gregoire FM, Stanhope KL, Mobbs CV, Mizuno TM, Warden CH, Stern JS, Havel PJ:** Evidence that glucose metabolism regulates leptin secretion from cultured rat adipocytes. *Endocrinology* 139:551-558 (1998).
110. **Muscelli E, Camastra S, Masoni A, Baldi S, Sironi AM, Natali A, Ferrannini E:** Acute insulin administration does not affect plasma leptin levels in lean or obese subjects. *Eur J Clin Invest* 26:940-943 (1996).
111. **Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K:** Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 280:R1483-1487 (2001).
112. **Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matsuo H, Kangawa K, Matsukura S:** A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409:194-198 (2001).
113. **Nedeltcheva AV, Kessler L, Imperial J, Penev PD:** Exposure to recurrent sleep restriction in the setting of high caloric intake and physical inactivity results in increased insulin resistance and reduced glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab* 94:3242-3250 (2009).

114. **Nedeltcheva AV, Kilkus JM, Imperial J, Kasza K, Schoeller DA, Penev PD:** Sleep curtailment is accompanied by increased intake of calories from snacks. *Am J Clin Nutr* 89:126-133 (2009).
115. **Nilsson C, Stahlberg F, Gideon P, Thomsen C, Henriksen O:** The nocturnal increase in human cerebrospinal fluid production is inhibited by a beta 1-receptor antagonist. *Am J Physiol* 267:R1445-1448 (1994).
116. **Nilsson C, Stahlberg F, Thomsen C, Henriksen O, Herning M, Owman C:** Circadian variation in human cerebrospinal fluid production measured by magnetic resonance imaging. *Am J Physiol* 262:R20-24 (1992).
117. **Norrelund H:** The metabolic role of growth hormone in humans with particular reference to fasting. *Growth Horm IGF Res* 15:95-122 (2005).
118. **Obici S, Feng Z, Karkanias G, Baskin DG, Rossetti L:** Decreasing hypothalamic insulin receptors causes hyperphagia and insulin resistance in rats. *Nat Neurosci* 5:566-572 (2002).
119. **Obici S, Zhang BB, Karkanias G, Rossetti L:** Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat Med* 8:1376-1382 (2002).
120. **Ocampo-Lim B, Guo W, DeMott-Friberg R, Barkan AL, Jaffe CA:** Nocturnal growth hormone (GH) secretion is eliminated by infusion of GH-releasing hormone antagonist. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4396-4399 (1996).
121. **Ollmann MM, Wilson BD, Yang YK, Kerns JA, Chen Y, Gantz I, Barsh GS:** Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein. *Science* 278:135-138 (1997).
122. **Omisade A, Buxton OM, Rusak B:** Impact of acute sleep restriction on cortisol and leptin levels in young women. *Physiol Behav* 99:651-656 (2010).
123. **Park CR:** Cognitive effects of insulin in the central nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* 25:311-323 (2001).
124. **Patel SR, Hu FB:** Short sleep duration and weight gain: a systematic review. *Obesity (Silver Spring)* 16:643-653 (2008).
125. **Pejovic S, Vgontzas AN, Basta M, Tsaoussoglou M, Zoumakis E, Vgontzas A, Bixler EO, Chrousos GP:** Leptin and hunger levels in young healthy adults after one night of sleep loss. *J Sleep Res* 19:552-558 (2010).
126. **Plat L, Byrne MM, Sturis J, Polonsky KS, Mockel J, Fery F, Van Cauter E:** Effects of morning cortisol elevation on insulin secretion and glucose regulation in humans. *Am J Physiol* 270:E36-42 (1996).
127. **Plat L, Leproult R, L'Hermite-Baleriaux M, Fery F, Mockel J, Polonsky KS, Van Cauter E:** Metabolic effects of short-term elevations of plasma cortisol are more pronounced in the evening than in the morning. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3082-3092 (1999).

128. **Pocai A, Lam TK, Gutierrez-Juarez R, Obici S, Schwartz GJ, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Rossetti L:** Hypothalamic K(ATP) channels control hepatic glucose production. *Nature* 434:1026-1031 (2005).
129. **Poggioli R, Vergoni AV, Bertolini A:** ACTH-(1-24) and alpha-MSH antagonize feeding behavior stimulated by kappa opiate agonists. *Peptides* 7:843-848 (1986).
130. **Popkin BM, Doak CM:** The obesity epidemic is a worldwide phenomenon. *Nutr Rev* 56:106-114 (1998).
131. **Porte D, Jr., Baskin DG, Schwartz MW:** Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutr Rev* 60:S20-29; discussion S68-84, 85-27 (2002).
132. **Ramnanan CJ, Saraswathi V, Smith MS, Donahue EP, Farmer B, Farmer TD, Neal D, Williams PE, Lautz M, Mari A, Cherrington AD, Edgerton DS:** Brain insulin action augments hepatic glycogen synthesis without suppressing glucose production or gluconeogenesis in dogs. *J Clin Invest* 121:3713-3723 (2011).
133. **Raposo PD, Pedrazzini T, White RB, Palmiter RD, Aubert ML:** Chronic neuropeptide Y infusion into the lateral ventricle induces sustained feeding and obesity in mice lacking either Npy1r or Npy5r expression. *Endocrinology* 145:304-310 (2004).
134. **Rechtschaffen A, Kales A:** A manual of standardized terminology, techniques and scoring system for sleep stages of human subjects. U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, Public Health Services-National Institutes of Health, National Institute of Neurological Diseases and Blindness, Neurological Information Network, Bethesda, Md. (1968).
135. **Reger MA, Watson GS, Frey WH, 2nd, Baker LD, Cholerton B, Keeling ML, Belongia DA, Fishel MA, Plymate SR, Schellenberg GD, Cherrier MM, Craft S:** Effects of intranasal insulin on cognition in memory-impaired older adults: modulation by APOE genotype. *Neurobiol Aging* 27:451-458 (2006).
136. **Reger MA, Watson GS, Green PS, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, Plymate SR, Cherrier MM, Schellenberg GD, Frey WH, 2nd, Craft S:** Intranasal insulin administration dose-dependently modulates verbal memory and plasma amyloid-beta in memory-impaired older adults. *J Alzheimers Dis* 13:323-331 (2008).
137. **Reger MA, Watson GS, Green PS, Wilkinson CW, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, Plymate SR, Breitner JC, DeGroodt W, Mehta P, Craft S:** Intranasal insulin improves cognition and modulates beta-amyloid in early AD. *Neurology* 70:440-448 (2008).
138. **Reiber H, Uhr M:** Liquordiagnostik. In: Berlit P: Klinische Neurologie. 3. Auflage, S. 146, Springer-Verlag, Berlin (2011).
139. **Rizza RA, Cryer PE, Gerich JE:** Role of glucagon, catecholamines, and growth hormone in human glucose counterregulation. Effects of somatostatin and combined alpha- and beta-adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates after insulin-induced hypoglycemia. *J Clin Invest* 64:62-71 (1979).

140. **Rossi M, Kim MS, Morgan DG, Small CJ, Edwards CM, Sunter D, Abusnana S, Goldstone AP, Russell SH, Stanley SA, Smith DM, Yagaloff K, Ghatel MA, Bloom SR:** A C-terminal fragment of Agouti-related protein increases feeding and antagonizes the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo. *Endocrinology* 139:4428-4431 (1998).
141. **Roth J, Glick SM, Yalow RS, Bersonsa:** Hypoglycemia: a potent stimulus to secretion of growth hormone. *Science* 140:987-988 (1963).
142. **Rothwell NJ, Stock MJ:** Insulin and thermogenesis. *Int J Obes* 12:93-102 (1988).
143. **Ruiter M, La Fleur SE, van Heijningen C, van der Vliet J, Kalsbeek A, Buijs RM:** The daily rhythm in plasma glucagon concentrations in the rat is modulated by the biological clock and by feeding behavior. *Diabetes* 52:1709-1715 (2003).
144. **Ryan AS, Elahi D:** The effects of acute hyperglycemia and hyperinsulinemia on plasma leptin levels: its relationships with body fat, visceral adiposity, and age in women. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4433-4438 (1996).
145. **Sanchez-Alavez M, Tabarean IV, Osborn O, Mitsukawa K, Schaefer J, Dubins J, Holmberg KH, Klein I, Klaus J, Gomez LF, Kolb H, Secrest J, Jochems J, Myashiro K, Buckley P, Hadcock JR, Eberwine J, Conti B, Bartfai T:** Insulin causes hyperthermia by direct inhibition of warm-sensitive neurons. *Diabetes* 59:43-50 (2010).
146. **Sangiah S, Caldwell DF:** Reduction of rapid eye movement (REM) sleep by glucose alone or glucose and insulin in rats. *Life Sci* 42:1425-1429 (1988).
147. **Scarpace PJ, Matheny M, Pollock BH, Tumer N:** Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. *Am J Physiol* 273:E226-230 (1997).
148. **Schmid SM, Hallschmid M, Jauch-Chara K, Bendorf N, Born J, Schultes B:** Sleep loss alters basal metabolic hormone secretion and modulates the dynamic counterregulatory response to hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab* 92:3044-3051 (2007).
149. **Schmid SM, Hallschmid M, Jauch-Chara K, Born J, Schultes B:** A single night of sleep deprivation increases ghrelin levels and feelings of hunger in normal-weight healthy men. *J Sleep Res* 17:331-334 (2008).
150. **Schmid SM, Hallschmid M, Jauch-Chara K, Wilms B, Lehnert H, Born J, Schultes B:** Disturbed glucoregulatory response to food intake after moderate sleep restriction. *Sleep* 34:371-377 (2011).
151. **Schmid SM, Jauch-Chara K, Hallschmid M, Schultes B:** Mild sleep restriction acutely reduces plasma glucagon levels in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 94:5169-5173 (2009).
152. **Schoeller DA, Cella LK, Sinha MK, Caro JF:** Entrainment of the diurnal rhythm of plasma leptin to meal timing. *J Clin Invest* 100:1882-1887 (1997).
153. **Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR, Kuijper JL, Foster D, Lasser G, Prunkard DE, Porte D, Jr., Woods SC, Seeley RJ, Weigle DS:** Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice. *Diabetes* 45:531-535 (1996).

154. **Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D, Jr.:** Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med* 2:589-593 (1996).
155. **Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG:** Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J Clin Invest* 98:1101-1106 (1996).
156. **Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC, Weigle DS, Campfield LA, Burn P, Baskin DG:** Leptin increases hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA expression in the rostral arcuate nucleus. *Diabetes* 46:2119-2123 (1997).
157. **Schwartz MW, Sipols A, Kahn SE, Lattemann DF, Taborsky GJ, Jr., Bergman RN, Woods SC, Porte D, Jr.:** Kinetics and specificity of insulin uptake from plasma into cerebrospinal fluid. *Am J Physiol* 259:E378-383 (1990).
158. **Schwartz MW, Woods SC, Porte D, Jr., Seeley RJ, Baskin DG:** Central nervous system control of food intake. *Nature* 404:661-671 (2000).
159. **Simon C, Gronfier C, Schlienger JL, Brandenberger G:** Circadian and ultradian variations of leptin in normal man under continuous enteral nutrition: relationship to sleep and body temperature. *J Clin Endocrinol Metab* 83:1893-1899 (1998).
160. **Simpson NS, Banks S, Dinges DF:** Sleep restriction is associated with increased morning plasma leptin concentrations, especially in women. *Biol Res Nurs* 12:47-53 (2010).
161. **Sipols AJ, Baskin DG, Schwartz MW:** Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. *Diabetes* 44:147-151 (1995).
162. **Spiegel K, Leproult R, Colecchia EF, L'Hermite-Baleriaux M, Nie Z, Copinschi G, Van Cauter E:** Adaptation of the 24-h growth hormone profile to a state of sleep debt. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279:R874-883 (2000).
163. **Spiegel K, Leproult R, L'Hermite-Baleriaux M, Copinschi G, Penev PD, Van Cauter E:** Leptin levels are dependent on sleep duration: relationships with sympathovagal balance, carbohydrate regulation, cortisol, and thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab* 89:5762-5771 (2004).
164. **Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E:** Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 354:1435-1439 (1999).
165. **Spiegel K, Tasali E, Penev P, Van Cauter E:** Brief communication: Sleep curtailment in healthy young men is associated with decreased leptin levels, elevated ghrelin levels, and increased hunger and appetite. *Ann Intern Med* 141:846-850 (2004).
166. **St-Onge MP, Roberts AL, Chen J, Kelleman M, O'Keeffe M, RoyChoudhury A, Jones PJ:** Short sleep duration increases energy intakes but does not change energy expenditure in normal-weight individuals. *Am J Clin Nutr* 94:410-416 (2011).
167. **Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, Leibowitz SF:** Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* 7:1189-1192 (1986).

168. **Steyer R, Schwenkmezger P, Notz P, Eid M:** Der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). Handanweisung. Hogrefe, Göttingen (1997).
169. **Stockhorst U, de Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA:** Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiol Behav* 83:47-54 (2004).
170. **Stork AD, Kemperman H, Erkelens DW, Veneman TF:** Comparison of the accuracy of the HemoCue glucose analyzer with the Yellow Springs Instrument glucose oxidase analyzer, particularly in hypoglycemia. *Eur J Endocrinol* 153:275-281 (2005).
171. **Strubbe JH, Porte D, Jr., Woods SC:** Insulin responses and glucose levels in plasma and cerebrospinal fluid during fasting and refeeding in the rat. *Physiol Behav* 44:205-208 (1988).
172. **Taheri S, Lin L, Austin D, Young T, Mignot E:** Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS Med* 1:e62 (2004).
173. **Tasali E, Leproult R, Ehrmann DA, Van Cauter E:** Slow-wave sleep and the risk of type 2 diabetes in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:1044-1049 (2008).
174. **Tasali E, Leproult R, Spiegel K:** Reduced sleep duration or quality: relationships with insulin resistance and type 2 diabetes. *Prog Cardiovasc Dis* 51:381-391 (2009).
175. **Thiel H, Roewer N:** Antidiabetika. In: Anästhesiologische Pharmakotherapie: Von den Grundlagen der Pharmakologie zur Medikamentenpraxis. 2. Auflage, S. 355, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (2009).
176. **Tong Q, Ye CP, Jones JE, Elmquist JK, Lowell BB:** Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. *Nat Neurosci* 11:998-1000 (2008).
177. **Ueno M, Carvalheira JB, Oliveira RL, Velloso LA, Saad MJ:** Circulating ghrelin concentrations are lowered by intracerebroventricular insulin. *Diabetologia* 49:2449-2452 (2006).
178. **Unger JW, Livingston JN, Moss AM:** Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanisms and functional aspects. *Prog Neurobiol* 36:343-362 (1991).
179. **Urayama A, Banks WA:** Starvation and triglycerides reverse the obesity-induced impairment of insulin transport at the blood-brain barrier. *Endocrinology* 149:3592-3597 (2008).
180. **Van Cauter E, Holmback U, Knutson K, Leproult R, Miller A, Nedeltcheva A, Pannain S, Penev P, Tasali E, Spiegel K:** Impact of sleep and sleep loss on neuroendocrine and metabolic function. *Horm Res* 67 Suppl 1:2-9 (2007).
181. **Van Cauter E, Kerkhofs M, Caufriez A, Van Onderbergen A, Thorner MO, Copinschi G:** A quantitative estimation of growth hormone secretion in normal man: reproducibility and relation to sleep and time of day. *J Clin Endocrinol Metab* 74:1441-1450 (1992).
182. **Van Cauter E, Knutson KL:** Sleep and the epidemic of obesity in children and adults. *Eur J Endocrinol* 159 Suppl 1:S59-66 (2008).

183. **Van Cauter E, Latta F, Nedeltcheva A, Spiegel K, Leproult R, Vandenbril C, Weiss R, Mockel J, Legros JJ, Copinschi G:** Reciprocal interactions between the GH axis and sleep. *Growth Horm IGF Res* 14 Suppl A:S10-17 (2004).
184. **Van Cauter E, Leproult R, Kupfer DJ:** Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab* 81:2468-2473 (1996).
185. **Van Cauter E, Plat L, Copinschi G:** Interrelations between sleep and the somatotrophic axis. *Sleep* 21:553-566 (1998).
186. **van den Top M, Spanswick D:** Integration of metabolic stimuli in the hypothalamic arcuate nucleus. *Prog Brain Res* 153:141-154 (2006).
187. **van Leeuwen WM, Hublin C, Sallinen M, Harna M, Hirvonen A, Porkka-Heiskanen T:** Prolonged sleep restriction affects glucose metabolism in healthy young men. *Int J Endocrinol* 2010:108641 (2010).
188. **Wallum BJ, Taborsky GJ, Jr., Porte D, Jr., Figlewicz DP, Jacobson L, Beard JC, Ward WK, Dorsa D:** Cerebrospinal fluid insulin levels increase during intravenous insulin infusions in man. *J Clin Endocrinol Metab* 64:190-194 (1987).
189. **Werther GA, Hogg A, Oldfield BJ, McKinley MJ, Figdor R, Allen AM, Mendelsohn FA:** Localization and characterization of insulin receptors in rat brain and pituitary gland using in vitro autoradiography and computerized densitometry. *Endocrinology* 121:1562-1570 (1987).
190. **Woods SC, Lotter EC, McKay LD, Porte D, Jr.:** Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature* 282:503-505 (1979).
191. **Woods SC, Seeley RJ, Baskin DG, Schwartz MW:** Insulin and the blood-brain barrier. *Curr Pharm Des* 9:795-800 (2003).
192. **Woods SC, Seeley RJ, Porte D, Jr., Schwartz MW:** Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science* 280:1378-1383 (1998).
193. **Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, Dhillo WS, Ghatei MA, Bloom SR:** Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 86:5992 (2001).
194. **Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM:** Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372:425-432 (1994).

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

<i>Abbildungen</i>	Seite
Abb. 1: Hypothalamisches Energiehomöostase-System	8
Abb. 2: Hypnogramme mit typischem nächtlichen Schlafverlauf	17
Abb. 3: Versuchsablauf	26
Abb. 4: Blutglukosekonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	40
Abb. 5: Insulinkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	42
Abb. 6: C-Peptid-Konzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	43
Abb. 7: Glukagonkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	45
Abb. 8: Leptinkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	47
Abb. 9: Ghrelinkonzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	49
Abb. 10: GH-Konzentration im Verlauf der Versuchssitzungen	51
Abb. 11: Nahrungsaufnahme und -zusammensetzung beim Testfrühstück	54

<i>Tabellen</i>	Seite
Tab. 1: Standardisiertes Frühstücksbuffet	32
Tab. 2: Schlafdauer und Schlafarchitektur. Gesamtgruppe	36
Tab. 3: Müdigkeit um 18.00 Uhr des Folgetages. Frauen und Männer	38

Danksagungen

Zuallererst danke ich *Prof. Dr. Jan Born*, in dessen Institut und mit dessen Mitteln die Versuche, die dieser Studie zugrunde liegen, durchgeführt wurden.

Ein ganz besonders herzlicher Dank richtet sich an meinen Betreuer und Doktorvater *PD Dr. Manfred Hallschmid*, der auch die Idee zur Durchführung dieser Studie hatte. Neben der Ausarbeitung der Versuche und der Hilfe bei der statistischen Auswertung möchte ich mich vor allem für die unermüdliche Geduld und beständige Offenheit, mit der er auf zahlreiche Fragen und Anregungen eingegangen ist, bedanken. Seine konstruktive Kritik und Freundlichkeit gepaart mit steter Erreichbarkeit und Zuverlässigkeit in jeder Phase dieser Arbeit waren eine Einladung zu wissenschaftlichem Arbeiten und mehr als vorbildlich für die Betreuung von Doktoranden.

Corinna Klameth, mit der ich gemeinsam die gesamte Studie durchgeführt habe und die in einer separaten Dissertation die kognitiven Insulineffekte im Zusammenhang mit dem Nachtschlaf auswertet, möchte ich hiermit ebenfalls ganz besonders danken. In der Zusammenarbeit war stets die Idee eines gemeinschaftlichen Projekts zu spüren und ihre Herzlichkeit sorgte dafür, dass wir auch ohne viel Schlaf immer munter blieben.

Außerdem danke ich *Dr. Susanne Diekelmann*, *Dr. Ines Wilhelm*, *Sabine Groch* und allen anderen wissenschaftlichen Mitarbeitern des Instituts für Neuroendokrinologie, deren hilfreiche Ratschläge – vor allem zur praktischen Umsetzung von Schlafstudien – ganz wesentlich zum Gelingen der Versuche beitrugen.

Daneben gilt mein Dank *Anja Niepelt* und *Anja Otterbein* für ihre organisatorische Hilfe in allen Belangen und *Fabian Griebe* für die exzellente technische Unterstützung zu jeder Tages- und Nachtzeit. Desweiteren bedanke ich mich bei *Christiane Otten*, *Heidi Ruf*, *Martina Grohs* und *Ingrid von Lützu* für die Durchführung der umfangreichen Hormonbestimmungen im Labor des Instituts für Neuroendokrinologie.

Den *Probanden* möchte ich für das uns entgegengebrachte Vertrauen und ihre Bereitschaft zur Teilnahme an dieser Studie danken. Der Firma *Aero Pump GmbH* (Hochheim, Deutschland) danke ich für die Bereitstellung der präzisen Pumpsysteme zur intranasalen Applikation der Testsubstanzen.

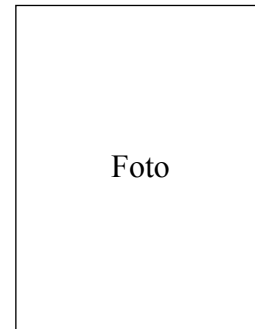
Für das Korrekturlesen bedanke ich mich bei meiner Schwester *Christine Rüdel*.

Zu guter Letzt, dafür ganz besonders danke ich meinen Eltern *Gertrud* und *Fritz Rüdel*, die mich stets in jeder erdenklichen Weise unterstützen und mir auch für diese Arbeit durch ihren Rückhalt immer die notwendige Sicherheit gegeben haben.

Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name Benjamin Rüdel
Geburtsdatum 07. Mai 1982
Geburtsort Uelzen (Niedersachsen)



Akademische Ausbildung

2004 – 2011 Medizinstudium (Staatsexamen) an der Universität zu Lübeck
Abschluss im Mai 2011: Ärztliche Prüfung, Approbation als Arzt
Mai 2011 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Aug. 2006 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2002 – 2004 Studium Maschinenbau (Diplom) an der TU Braunschweig
Sept. 2004 Vordiplom Maschinenbau an der TU Braunschweig

Promotion am Institut für Neuroendokrinologie (Universität zu Lübeck)

2011 – 2012 Datenauswertung, Erstellung der Dissertation (Juni – April)
Dez. 2010 3-tägige Winter School „Plasticity Across Systems – Linking Neuronal, Immune and Metabolic Memory” (Lübeck)
2009 – 2010 Versuchsdurchführung, Datenauswertung (Juni – Feb.)
Mai 2009 Wahlfach „Einführung in die Auswertung von Schlafdaten und das Verfassen von Doktorarbeiten“

Praktische Erfahrungen im Bereich Medizin

2010 – 2011 Praktisches Jahr (jeweils 4 Monate)
• Innere Medizin: Universitätsklinik Göttingen
• Chirurgie: Inselspital Bern, Schweiz; Universitätsklinik Göttingen
• Neurologie: Universitätsklinik Lübeck
2007 – 2009 Famulaturen in der Inneren Medizin und Pädiatrie (insgesamt 5 Monate)
2005 – 2006 Pflegepraktika in der Chirurgie und Anästhesie (insgesamt 3 Monate)

Lübeck, 23. April 2012