

Aus dem Institut für Neuroendokrinologie
der Universität zu Lübeck

Kommissarischer Leiter: Prof. Dr. Hendrik Lehnert

**Zentralnervöse Effekte von Insulin auf die
nahrungsinduzierte Thermogenese und den
Glukosestoffwechsel des Menschen**

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

vorgelegt von
Swantje Brede
aus Kassel

Lübeck 2012

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. rer.hum.biol. Dr. Manfred Hallschmid

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr.med. Thomas Witthöft

Tag der mündlichen Prüfung: 08.03.2013

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 08.03.2013

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Meiner Familie,
und in Gedenken an
meine Großeltern und
an Herrn Rudolph Becker

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Abkürzungsverzeichnis	6
1. Einleitung	7
1.1 Das Hormon Insulin	8-9
1.2 Die zentralnervöse Wirkung von Insulin	
1.2.1 Der Insulinrezeptor im zentralen Nervensystem	9-10
1.2.2 Neurokognitive Wirkung	10-11
1.2.3 Die zentrale Regulation des Energiehaushaltes	11-14
1.2.4 Die Rolle des zentralnervösen Insulins in der Pathophysiologie der Adipositas	14-15
1.2.5 Die Kontrolle des Glukosestoffwechsels	15-18
1.3 Die nahrungsinduzierte Thermogenese	19-21
1.4 Die intranasale Applikation	21-22
1.5 Fragestellung	23-24
2. Material und Methoden	
2.1 Probanden	25
2.2 Studiendesign	25
2.3 Versuchsablauf	26-28
2.3.1 Die intranasale Insulin- und Placebogabe	28
2.4 Darstellung der Einzeluntersuchungen	29-31
2.4.1 Körpergröße und Körpergewicht	29
2.4.2 Die indirekte Kalorimetrie	30-31
2.5 Statistische Methoden	32
3. Ergebnisse	
3.1 Indirekte Kalorimetrie	33-34
3.2 Blutzucker und Hormone	35-39
3.2.1 Glukose	35
3.2.2 Insulin	36

3.2.3 C-Peptid	37
3.2.4 Freie Fettsäuren	38
4. Diskussion	
4.1 Beeinflussung der nahrungsinduzierten Thermogenese	40-44
4.2 Beeinflussung des Blutzuckers	44-47
4.3 Ausblick	47-48
5. Zusammenfassung	49
6. Literaturverzeichnis	50-59
7. Anhang	
Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen	60
Versuchsprotokoll	61-65
8. Danksagung	66
9. Lebenslauf	67
10. Publikationsverzeichnis	68

Abkürzungsverzeichnis

AgRP	Agouti-related peptide
ATP	Adenosintriphosphat
α -MSH	Alpha-Melanozyten stimulierendes Hormon
AUC	Area under the curve
β -MSH	Beta-Melanozyten stimulierendes Hormon
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMI	Body Mass Index
Da	Dalton
ECoG	Elektrocortigramm
GABA	Gamma-aminobutyric acid = Gamma-Aminobuttersäure
GLUT	Glukosetransporter
IRS	Insulin Rezeptor Substrat
IU	Internationale Einheit (international unit)
K_{ATP}	ATP-abhängiger Kaliumkanal
MCR	Melanocortin-Rezeptor
NPY	Neuropeptid Y
POMC	Proopiomelanocortin
REE	Ruheenergieverbrauch
RQ	Respiratorischer Quotient
VK	Variationskoeffizient

1. Einleitung

In der heutigen Zeit stellen metabolische Erkrankungen wie die Adipositas (lat. *adeps* = Fett) zunehmend ein großes Gesundheitsrisiko in Deutschland, aber auch in vielen anderen westlichen Industrienationen dar. Bei der Entstehung der Adipositas kommt es vereinfacht dargestellt zu einer kontinuierlichen Gewichtszunahme, wenn die mit der Nahrung zugeführte Energiemenge den Energieumsatz eines Menschen dauerhaft übersteigt. Derzeit stellt die Änderung der Ernährungsgewohnheiten auf hypokalorische Bedingungen einen der häufigsten therapeutischen Ansatzpunkte zur Behandlung des Übergewichts oder der Adipositas dar, um das erhöhte Körpergewicht wieder zu reduzieren. In der Regel verlieren die Patienten durch diese eingeschränkte Energiezufuhr zunächst deutlich an Körpergewicht. Nach dieser Gewichtsreduktion erfolgt jedoch allzu häufig, bei dann wieder normaler Ernährungsweise, eine schnelle Wiedergewinnung auf das vorherige oder sogar auf ein noch höheres Körpergewicht. Dieser sogenannte „JoJo-Effekt“ deutet an, dass die Körpergewichtsregulation eines Menschen einem „Setpoint“, also einem intrinsischen Stellwert, folgt. Die Identifizierung der intrinsischen Faktoren, die zur Aufrechterhaltung dieses veränderten Körpergewichts-Sollwertes beitragen, könnte somit einen vielversprechenden therapeutischen Ansatz darstellen, um eine dauerhafte Normalisierung des Körpergewichts bei Adipösen zu erreichen.

Ein Botenstoff, der sowohl peripher als auch zentralnervös entscheidende Funktionen in dieser Regulation des Körpergewichts besitzt, ist das im Jahre 1923 von Banting und Best erstmals beschriebene Hormon Insulin, ein Peptidhormon aus den β -Zellen des Pankreas. Jahrzehntlang war nur die periphere Funktion dieses Hormons in der Kontrolle des Glukosestoffwechsels bekannt. Mit der 1954 gemachten Entdeckung, dass Insulinrezeptoren auch im Gehirn von Lebewesen nachzuweisen sind, begann die Suche nach den über diese Rezeptoren vermittelten zentralen Insulineffekten.

1.1 Das Hormon Insulin

Insulin ist ein kleines Protein (6000 Da) und wird in den β -Zellen des endokrinen Teils des Pankreas produziert. Es ist ein hydrophiles Peptidhormon aus 51 Aminosäuren und besteht aus zwei unterschiedlich langen Polypeptidketten. Diese Ketten α und β sind über zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden, eine weitere dieser Brücken befindet sich innerhalb der α -Kette. Die Synthetisierung des Hormons beginnt an den Ribosomen des rauen endoplasmatischen Retikulums mit der Bildung eines einkettigen unverzweigten Polypeptids, dem Präpro-Insulin. Im Lumen des endoplasmatischen Retikulums wird im nächsten Schritt ein Signalpeptid abgespalten und es entsteht Proinsulin, welches dann zwei Disulfidbrücken besitzt. Diese Vorstufe wird vorerst im sogenannten Golgi-Apparat in Vesikel verpackt und verbleibt in diesen als Insulin-Zink-Komplex. Steigt die Glukosekonzentration im Blut, wird Glukose über GLUT-2-Transporter in die β -Zelle aufgenommen und verstoffwechselt, wobei ATP entsteht. Durch die erhöhte ATP-Konzentration in der Zelle schließen sich ATP-abhängige Kaliumkanäle in der Zellmembran, wodurch es zur Depolarisierung dieser Membran kommt. Diese führt zur Öffnung spannungsabhängiger Calciumkanäle und so zu einem intrazellulären Anstieg von Calcium. Dieser ist der Auslöser für eine gesteigerte Exozytose von Insulin. Eine Protease spaltet aus der Vorstufe Proinsulin das C (connecting)-Peptid (oder C-Sequenz) ab und es entsteht aktives Insulin, welches mit dem C-Peptid und dem Zink ins Blut freigesetzt wird.

Das freigesetzte Insulin wirkt nicht auf alle Zellen des Organismus, sondern vorrangig an der Muskulatur, dem Fettgewebe und der Leber. Die am längsten bekannte und wichtigste Funktion des Hormons ist die Stimulation der Glukoseaufnahme in die Muskelzellen. Eine gleichartige Wirkung konnte später auch im Fettgewebe nachgewiesen werden. Die Glukoseaufnahme erfolgt dabei über den GLUT-4-Transporter, welcher unter der Einwirkung des Insulins verstärkt in die Plasmamembran eingelagert wird. Die gesteigerte Glukoseaufnahme führt an der Muskelzelle hauptsächlich zu einer gesteigerten Glykogenbiosynthese. In der Fettzelle wird die Glukose im sogenannten Hexosemonophosphatweg abgebaut. Außerdem wird der Glukoseabbau im Fettgewebe gesteigert und das entstandene Pyruvat decarboxyliert und zur Fettsäurebiosynthese verwendet. Insulin hat somit auch im Fettgewebe einen Einfluss auf den Aufbau von Speichermolekülen.

Nucleus arcuatus), dem Hippocampus und den dazu verknüpften limbischen Strukturen exprimiert (Unger et al., 1991). Ebenfalls können Rezeptoren im Striatum und der Hirnrinde gefunden werden (Schulingkamp et al., 2000).

Die Insulinrezeptoren befinden sich sowohl in Neuronen als auch in den Gliazellen des Gehirns (Wozniak et al., 1993). Zu unterscheiden sind dabei zwei Typen von Rezeptoren. Zum einen der periphere Typ, der im Gehirn insbesondere in den Gliazellen repräsentiert ist, die insgesamt wenig Rezeptoren besitzen (Adamo et al., 1989) und zum anderen der sogenannte neuronale Typ, der im Gegensatz zum ersten Typ α - und β -Untereinheiten mit leichterem Molekulargewicht besitzt (Heidenreich et al., 1983). Ein weiterer Unterschied besteht darin, dass bei hyperinsulinämischen Bedingungen eine Downregulation der peripheren, nicht jedoch der neuronalen Rezeptoren stattfindet (Zahniser et al., 1984).

In der Peripherie ist der Insulinrezeptor mit einem Signaltransduktionsweg über die Familie der IRS Adaptermoleküle verbunden, vorrangig mit dem Adaptermolekül IRS-1. Die Rolle dieses Moleküls in der zentralnervösen Funktion des Insulins ist umstritten, da IRS-1 im Bereich des ventralen Hypothalamus, wo viele Insulinrezeptoren vorkommen, nicht nachgewiesen werden konnte (Araki et al., 1994). Hingegen konnte IRS-2 als mögliches Adaptermolekül im Nucleus arcuatus gefunden werden (Torsoni et al., 2003).

1.2.2 Neurokognitive Wirkung

Wie oben beschrieben befinden sich viele zentrale Insulinrezeptoren im Hippocampus und präfrontalen Kortex (Unger et al., 1991), also in Teilen des Gehirns, die eine wesentliche Rolle in den deklarativen Gedächtnisleistungen des Menschen spielen. Das legt den Gedanken nahe, dass Insulin einen Einfluss auf neurokognitive Prozesse nimmt. Und tatsächlich konnte 2000 nachgewiesen werden, dass die direkte Insulinsubstitution in das ZNS von Ratten zu einer Verbesserung der hippokampalen Gedächtnisfunktion führt (Park et al., 2000). In nachfolgenden Humanstudien zeigte sich, dass höhere Dosen von intravenös verabreichtem Insulin das deklarative Gedächtnis von gesunden Männern mehr beeinflussen als niedrige Dosierungen (Kern et al., 2001). Da die intravenöse Gabe des Hormons durch zahlreiche periphere Nebenwirkungen, insbesondere Hypoglykämien, in humanexperimentellen Studien nur eingeschränkt möglich ist,

stellt sich die Frage nach alternativen Applikationsformen. Aufbauend auf tierexperimentellen Vorläuferstudien zur intranasalen Applikation von Substanzen in das ZNS konnte die Gruppe um Born 2002 zeigen, dass die Gabe von Insulin als Nasenspray innerhalb von 30 Minuten einen signifikanten Anstieg der Hormonkonzentration im Liquor induziert (Born et al., 2002; siehe 1.4 Die intranasale Applikation).

Dass dieses intranasal applizierte Insulin zu einer Verbesserung kognitiver Funktionen führt, konnte 2004 von Benedict und Mitarbeitern bei gesunden Männern gezeigt werden, die über einen Zeitraum von acht Wochen 160 IE/Tag des Hormons erhielten (Benedict et al., 2004). Weiterführende Studien ergaben, dass in der neurokognitiven Wirkung des Insulins Geschlechtsunterschiede bestehen. So verbessert die einmalige intranasale Insulinsubstitution die Hippocampus- assoziierte Gedächtnisfunktion und das Arbeitsgedächtnis bei gesunden Frauen deutlich besser als bei Männern (Benedict et al., 2008). Eine klinische Relevanz erlangen diese Ergebnisse dadurch, dass bei Patienten mit einer Demenz vom Alzheimer-Typ schon in einem frühen Stadium der Erkrankung ein Rückgang von zentralen Insulinrezeptoren und insulin-sensitiven Glukosetransportern beobachtet werden kann (Gasparini et al, 2002). Außerdem finden sich bei Alzheimer-Patienten erhöhte Konzentrationen nicht metabolisierter Glukose im zerebralen Blut, welches als eine Art von zentralem Typ 2 Diabetes mellitus gewertet werden kann (Hoyer S., 1998). Zudem ist die Konzentration von Insulin im Liquor erniedrigt, während sie im Plasma zur gleichen Zeit erhöht ist (Craft et al., 1998). Die intranasale Substitution des nicht ausreichend vorhandenen Insulins könnte also in Zukunft eine Therapieoption zur Verbesserung des Gedächtnisses bei Alzheimer-Patienten darstellen, wobei ein positiver Effekt bislang nur bei Patienten ohne das APOE4-Gen Allel, welches verbunden ist mit einem erhöhten Risiko die Erkrankung zu entwickeln, nachgewiesen werden konnte (Cummings und Cole, 2002).

1.2.3 Die zentrale Regulation des Energiehaushaltes

Schon länger ist bekannt, dass vorrangig zwei Hormone eine wesentliche Rolle in der zentralen Steuerung des Energiehaushaltes eines Menschen spielen: Zum einen Leptin, ein endokrines Peptid aus dem weißen Fettgewebe, und zum anderen Insulin. Beide erfüllen die Kriterien eines sogenannten „Adiposity-Signals“

oder Fettspeicher-Signals (Seeley und Woods, 2003), denn bei beiden sind die peripheren Konzentrationen des Hormons proportional zum Körperfett und sinken während des Fastens (Considine et al., 1996; Gerozisis, 2003).

Die Steuerung wird von beiden Peptiden hauptsächlich über ein System ausgeführt: Über die erhöhte Genexpression des Pro-Opiomelanocortins (POMC), welches im Nucleus arcuatus des Hypothalamus lokalisiert ist (Cheung et al., 1997; Mizuno et al., 1998). Die vermehrte Genexpression des POMC nach Bindung von Insulin und Leptin an ihre Rezeptoren wird dabei hauptsächlich über eine Stimulation der Phosphatidylinositol-3-Kinase reguliert (Niswender et al., 2001).

Diese Stimulation führt zu einer vermehrten Sekretion des so genannten α -Melanozyten stimulierenden Hormons (α -MSH), ein Ligand des Melanocortinrezeptors 4 (MCR-4) (Seeley et al., 1997; Benoit et al., 2002), der mit der Regulation des Körpergewichts in Verbindung steht (Huszar et al., 1997; Benoit et al., 2000). So führt ein genetischer Defekt des MCR-4 bei Mäusen zu einer Hyperphagie, einem Hyperinsulinismus, Hyperglykämie und Adipositas (Huszar et al., 1997). Eine Ablation des Leptinrezeptors bei POMC-Neuronen führt zu einer Erhöhung des Körpergewichts (Balthasar et al., 2004). Überraschenderweise konnte dieser Effekt durch eine Ablation von Insulinrezeptoren nicht nachgewiesen werden (Könner et al., 2007). Die Lösung dieser konträren Studienergebnisse wurde 2010 gefunden, als nachgewiesen werden konnte, dass die zwei Hormone an verschiedenen Subpopulationen der POMC-Neurone im Nucleus arcuatus zu Veränderungen des Membranpotentials führen, es also solche Nervenzellen gibt die Leptin-sensibel sind und andere, die auf Insulin ansprechen (Williams et al., 2010). Die meisten der Leptin-sensiblen POMC Zellen können im lateralen Anteil des retrochiasmatischen Areal und im medialen Nucleus arcuatus nachgewiesen werden (Hill, 2010 und Williams et al., 2010). Dahingegen zeigen sich die Insulin-sensiblen Neurone zumeist im medialen Anteil des retrochiasmatischen Areal und im rostromedialen Teil des Nucleus arcuatus (Williams et al., 2010). Diese strikte Trennung der POMC-Neurone scheint allerdings nicht absolut zu sein, da 2009 bereits drei solcher Zellen elektrophysiologische Signale sowohl bei Stimulation mit Insulin, als auch mit Leptin aussendeten (Al-Qassab et al., 2009).

Gegenspieler zu den beiden katabolisch wirksamen Peptiden Insulin und Leptin sind das Neuropeptid Y (NPY) und das Agouti-related Protein (AgRP), welche einen Teil ihrer anabolischen Wirkung als kompetetive Antagonisten des α -MSH am Melanocortin-Rezeptor ausüben (Lu et al., 1994). Zusätzlich können beide über eine synaptische Freisetzung der inhibitorisch wirksamen γ -Aminobuttersäure (GABA) die POMC exprimierenden Neurone direkt beeinflussen (Tong et al., 2008). Ein Mangel an zentralem Insulin scheint das AgRP/NPY System zu aktivieren (Sipols et al., 1995). Diese Aktivierung führt zu vermehrter Nahrungsaufnahme bei gleichzeitig reduziertem Energieverbrauch (Luquet et al., 2005 und Gropp et al., 2005) (siehe Abbildung 2). Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion des Körpergewichts zu einer vermehrten Expression von NPY und AgRP bei gleichzeitig verminderter Expression von POMC/ α -MSH führt. Die durch den Gewichtsverlust reduzierte Signalwirkung von Insulin und Leptin aktiviert folglich Transmitter im Gehirn, die eine vermehrte Nahrungsaufnahme und einen reduzierten Energieverbrauch bedingen (Woods et al., 2000).

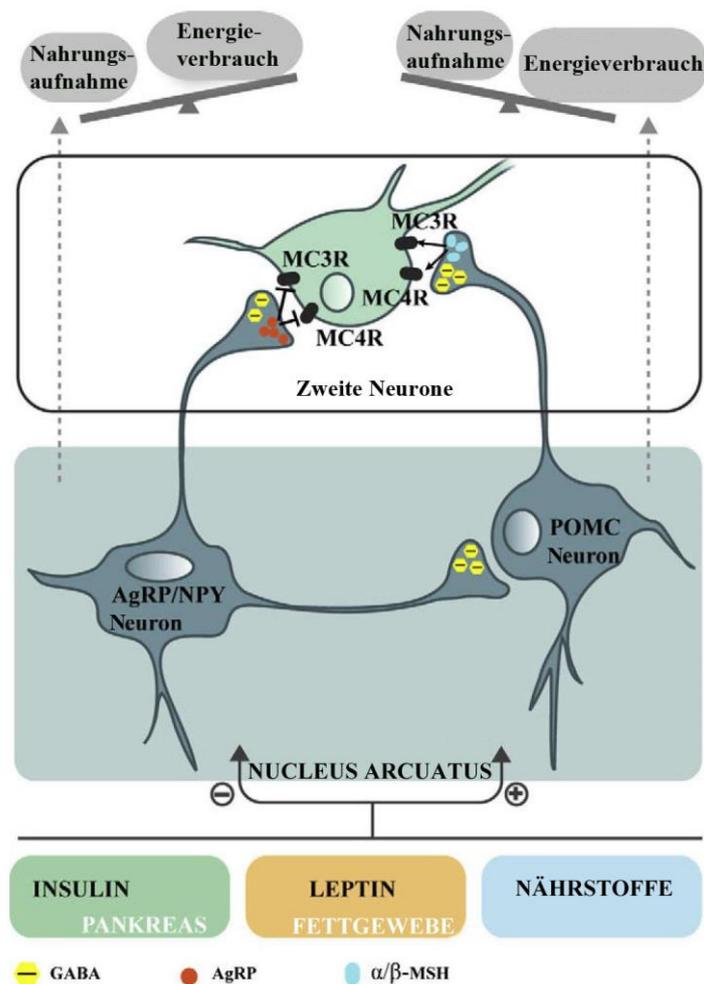


Abbildung 2. Regulation des Energiehaushaltes durch die POMC- und AgRP-Neurone mittels Melanocortinsystem. POMC- und AgRP- Neurone befinden sich im Nucleus arcuatus nahe der Blut-Hirn-Schranke und nehmen von hier Einfluss auf die Regulation des Energiehaushaltes. α - und β -MSH aus den POMC-Neuronen wirken auf die MC3- und MC4-Rezeptoren übergeordneter zweiter Neurone und führen hierüber zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme und einer Steigerung des Energieverbrauchs. AgRP als Antagonist an diesen Rezeptoren bewirkt die entgegengesetzten Effekte auf den Energiehaushalt. Gamma-Aminobuttersäure (GABA) hat sowohl inhibierende Eigenschaften auf die POMC und AgRP-Wirkung an den zweiten Neuronen, als auch direkt an den AgRP-Neuronen auf die POMC-Neurone. Insulin, Leptin und Nährstoffe stimulieren die POMC-Genexpression und hemmen die AgRP/NPY-Neurone (modifiziert nach Sánchez-Lasheras et al., 2010).

1.2.4 Die Rolle des zentralnervösen Insulins in der Pathophysiologie der Adipositas

Wie oben beschrieben zählt Insulin zu den sogenannten Fettspeicher-Signalen, da sich die periphere Blutkonzentration des Peptids proportional zum Körperfettgehalt verhält (Seeley und Woods, 2003). Bei verschiedenen Lebewesen lässt sich darüber hinaus zeigen, dass eine Erhöhung der peripheren Plasmainsulinspiegel zu korrespondierenden Erhöhungen des Insulins im Liquor führt (Wallum et al., 1987). Hingegen zeigte sich, dass bei übergewichtigen Männern die zentralen Insulinkonzentrationen nicht mit den erhöhten peripheren Konzentrationen korrespondieren, also folglich eine reduzierte Liquor-Plasma-Insulinrate bei adipösen Männern vorliegt (Kern et al., 2006). Bei übergewichtigen *fa/fa* Ratten, bei denen eine genetische Mutation zu einer verminderten Funktion der Insulinrezeptoren führt, konnte eine verminderte Bindung von Insulin an endotheliale Zellen von Mikrogefäßen nachgewiesen werden, wodurch weniger Insulin-Insulinrezeptorkomplexe in die Endothelzellen der Rattengehirne aufgenommen wurden (Schwartz et al., 1990).

Hieraus ergibt sich, dass die reduzierte Liquor-Plasma-Insulinrate durch einen gestörten transendothelialen Insulintransport über die Bluthirnschranke bedingt sein könnte (Kaiyala et al., 2000). Vergleichbare Studienergebnisse hinsichtlich der peripheren zur zentralen Konzentration bei Adipositas ließen sich auch für Leptin nachweisen (Caro et al., 1996). Wird der verminderte transendotheliale Transport der Peptide als mitursächlich angenommen, so rückt die intranasale Applikation (siehe unten) der Botenstoffe als mögliche therapeutische Option in den Vordergrund. Tatsächlich konnte die Forschergruppe um Hallschmid 2004 zeigen, dass eine intranasale Insulingabe über acht Wochen

(4 x 40 IE/Tag) bei jungen gesunden Männern zu einer Reduktion des Körpergewichts und des Körperfettgehalts führt. Dieser Effekt war allerdings bei den in der Studie untersuchten weiblichen Studienteilnehmern nicht nachweisbar, so dass anzunehmen ist, dass hinsichtlich der zentralen Sensitivität von Adipositassignalen Geschlechtsunterschiede bestehen (Hallschmid et al., 2004).

Darüber hinaus zeigten Studienergebnisse der gleichen Forschungsgruppe 2008, dass eine achtwöchige intranasale Insulinapplikation bei adipösen Männern keine Effekte auf das Körpergewicht oder den Körperfettgehalt hat (Hallschmid et al., 2008). Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass neben einem gestörten transendothelialen Insulintransport eine reduzierte Sensitivität von zentralen Strukturen, die in die Regulierung des Energiehaushalts involviert sind, vorliegt, also eine zentrale Insulinresistenz besteht.

Diese Vermutung wird durch tierexperimentelle Studien bei Ratten bestätigt. Hier wurde selektiv mittels eines Oligodeoxynucleotids, welches direkt in den dritten Ventrikel der Rattengehirne injiziert wurde, die Expression von Insulinrezeptoren in hypothalamischen Kerngebieten unterdrückt. Sieben Tage nach Applikation wurde ein Rückgang des Rezeptors um ca. 80 % im Nucleus arcuatus festgestellt. Die Insulinrezeptoren anderer hypothalamischer und nicht-hypothalamischer Strukturen waren quantitativ unverändert. Dieser Rückgang der Rezeptoren im Nucleus arcuatus führte bei den Ratten zu einer deutlich vermehrten Nahrungsaufnahme und einem vermehrten Körperfettgehalt (Obici et al., 2002b).

1.2.5 Die Kontrolle des Glukosestoffwechsels

Eine entscheidende Rolle in der Kontrolle des Glukosestoffwechsels hat die Leber, welche in Zeiten eines Überangebots Glukose aus dem Blut extrahiert und speichert und in Zeiten eines Glukosemangels in der Lage ist durch Glykogenolyse und Glukoneogenese den Energiebedarf zu decken (Gribble, 2005). Bei der Glykogenolyse wird Glukose aus den Glykogenspeichern des Körpers freigesetzt. Diese Glykogenspeicher finden sich in unterschiedlichen Konzentrationen in allen Zelltypen, außer den Erythrozyten. Am bedeutendsten als Speicher sind aber die Leber mit maximal 10g Glykogen/100g Gewebe, sowie die Skelettmuskulatur mit maximal 1g Glykogen/100g Gewebe. In Zeiten von Glukoseüberangebot wird die Glukose zu UDP-Glukose aktiviert und durch das

Enzym Glykogensynthase an bestehendes Glykogen oder an das Glykoprotein Glykogenin geknüpft. Kommt es zu einem Blutzuckermangel, kann das Glykogen durch eine Phosphorylase durch Spaltung der glykosidischen Verbindungen abgebaut und in Niere und Leber aus der Vorstufe Glukose-6-Phosphat zu Glukose umgewandelt werden. Ein anderer Weg der Blutzuckererhöhung ist die Glukoneogenese, welche fast ausschließlich in der Leber und zu geringen Teilen in den Nieren stattfindet. Dabei wird Glukose aus Nicht-Kohlenhydrat-Vorstufen, wie Laktat, Glycerin und glukogenen Aminosäuren, synthetisiert. Diese Bereitstellung von Glukose ist besonders wichtig, da insbesondere das Gehirn lediglich die Glukose als Energielieferant nutzen kann (Löffler, 2003b).

Die Rolle des Insulins in der peripheren direkten und indirekten Kontrolle des hepatischen Glukosestoffwechsels ist unumstritten. In Zeiten eines Glukoseüberangebots bindet Insulin nach Ausschüttung aus dem Pankreas an seinen Rezeptor an der Zelloberfläche von Hepatozyten und aktiviert so einen intrazellulären Signalweg über die Phosphatidylinositol-3-Kinase, was zu einer direkten Inhibierung der Glukosesynthetisierung in der Leber führt (Miyake et al., 2002). Des Weiteren greift das Peptid indirekt in den Glukosestoffwechsel ein, indem es die Ausschüttung seines Gegenspielers Glukagon aus den α -Zellen des Pankreas (Ishihara et al., 2003), die Ausschüttung von nichtverzweigten Fettsäuren und Glycerol aus dem Fettgewebe (Sindelar, 1997) und die Ausschüttung von Vorstufen für die Glukoneogenese aus der Skelettmuskulatur hemmt (Sindelar et al., 1996).

Dass die Unterdrückung der hepatischen Glukosesynthese nicht nur auf diesem Weg, sondern auch extrahepatisch möglich ist, zeigte eine Gruppe um Prager bereits 1987, als sie bei übergewichtigen männlichen Nichtdiabetikern nach peripherer Insulininfusion die Glukoseneubildung hemmte, obwohl die portalvenöse Insulinkonzentration unverändert blieb (Prager et al., 1987).

Ein möglicher Weg dieser extrahepatischen Hemmung der Glukosesynthese ist eine zentrale Steuerung über den Hypothalamus. Pociu und Mitarbeiter zeigten 2005, dass Insulin, zusätzlich zu seiner peripheren Wirkung, über eine Aktivierung zentraler ATP-sensitiver Kaliumkanäle (K_{ATP}) im Hypothalamus in den Glukosestoffwechsel eingreift. Sie bewiesen, dass die Infusion des Kaliumkanalöffners Diazoxid in den mediobasalen Hypothalamus zu einer Unterdrückung der hepatischen Glukosesynthese führt (Pociu et al., 2005).

Bei Ratten konnte über eine Infusion von Insulin in den dritten Ventrikel die Glukoseneubildung um ca. 40 %, unabhängig von der peripheren Insulinkonzentration gehemmt werden (Obici et al., 2002a). Dass diese zentrale Hemmung auch beim Menschen möglich ist, konnte erst kürzlich von der Forschergruppe um Kishore gezeigt werden. Hierbei wurde zehn gesunden Probanden drei Stunden vor einem folgenden vierstündigen Intervall, in dem die pankreatische Insulinbereitstellung durch Somatostatin unterdrückt wurde, der Kaliumkanalagonist Diazoxid oral substituiert. Es zeigte sich, dass es innerhalb der letzten zwei Stunden des Versuchs, also ca. sechs bis sieben Stunden nach oraler Gabe des Agonisten, zu einer um durchschnittlich 30 % verringerten Glukosebereitstellung kam. Diese Ergebnisse lassen die Vermutung zu, dass auch beim Menschen durch eine zentrale Aktivierung der Kaliumkanäle eine Inhibierung der Glukosesynthese in der Leber möglich ist und dass diese Unterdrückung unabhängig von der peripheren Insulinfreisetzung des Pankreas funktioniert. Gleichzeitig wurde in dieser Studie auch Ratten Diazoxid oral verabreicht, zusätzlich wurde hier aber auch Glibenclamid, ein Kaliumkanalhemmer, intraventriculär appliziert. Durch diese Applikation konnte der zuvor bewiesene hemmende Effekt des Diazoxid auf die Glukoseproduktion aufgehoben werden. Diese Beobachtung beweist, dass die durch den oral substituierten Kaliumkanalagonisten zu beobachtenden Wirkungen tatsächlich auf zentraler Ebene ausgelöst werden (Kishore et al., 2011).

Diese zentrale Wirkung wird durch andere Ergebnisse unterstützt, die zeigten, dass eine Reduktion der Insulinrezeptoren im Nucleus arcuatus um 50 % zu einem signifikanten Sensitivitätsverlust der Leber gegenüber dem Insulin führt (Obici et al., 2002a). Hierbei konnte diese Resistenz vorrangig durch einen Rezeptormangel an AgRP-Neuronen, nicht aber an POMC-Neuronen, ausgelöst werden (Könner et al., 2007).

Die folgende Abbildung 3 gibt einen zusammenfassenden schematischen Überblick über die bislang bekannten zentralnervösen Wirkungen von Insulin.

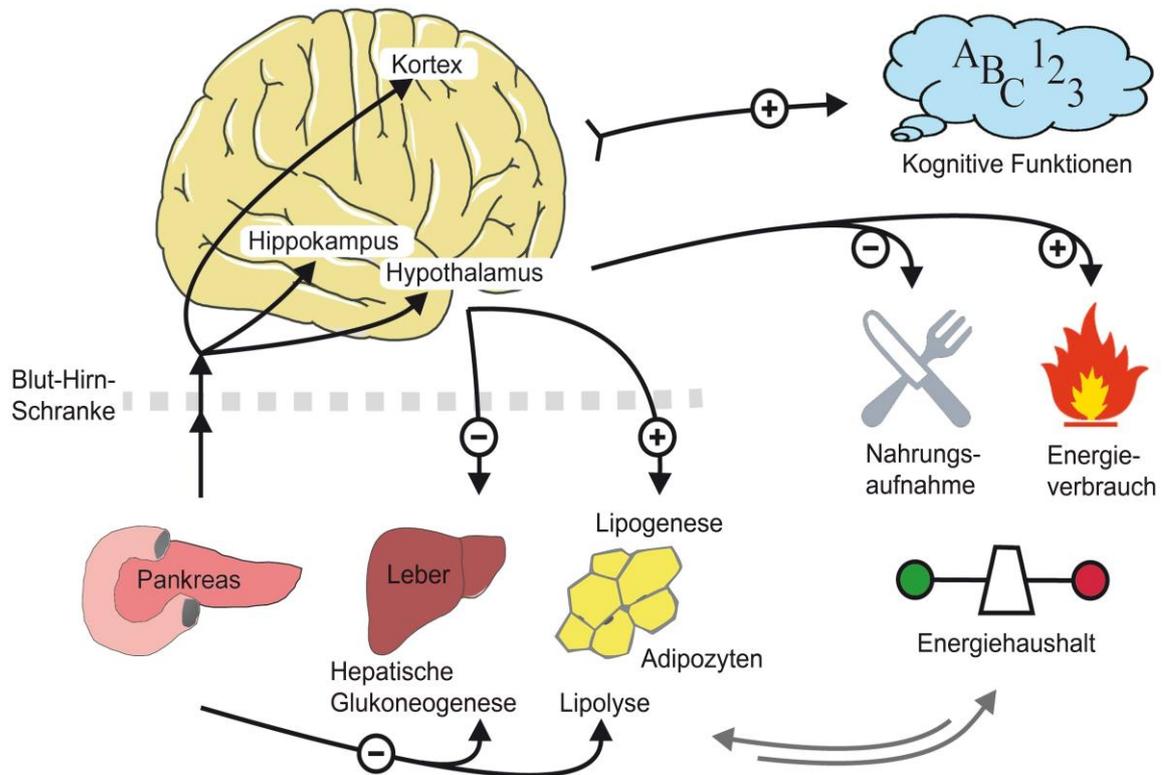


Abbildung 3. Schematisches Modell der zentralnervösen Insulinwirkungen. Insulin überwindet nach Ausschüttung aus dem Pankreas die Blut-Hirn-Schranke. Durch Aktivierung cerebraler Strukturen verbessert Insulin kognitive Funktionen, reduziert die Nahrungsaufnahme und erhöht den Energieumsatz. Des Weiteren reguliert das Hormon die hepatische Glukoneogenese und, zusammen mit dem peripheren Insulin, die Adipozyten des Fettgewebes (modifiziert nach Hallschmid und Schultes, 2009; mit freundlicher Genehmigung der Autoren).

1.3 Die nahrungsinduzierte Thermogenese

Der Gesamtenergieverbrauch eines Menschen setzt sich aus drei verschiedenen Komponenten zusammen. Den größten Anteil davon bildet der Ruheenergieverbrauch (REE) mit ca. 60 – 75 %. Als Summe der metabolischen Aktivität von Organen und Geweben des Körpers wird er von den Faktoren Körpergewicht, fettfreie Masse und Fettmasse bestimmt. Des Weiteren wird er von Alter, Geschlecht und Genetik, Fettverteilung und sympathischem Nervensystem, sowie den Schilddrüsenhormone Trijodthyronin und Tetrajodthyronin und dem Sexualhormon Testosteron beeinflusst.

15 – 30 % des Gesamtenergiebedarfs werden durch die sogenannte arbeitsinduzierte Thermogenese beigetragen, das heißt durch die physische Aktivität des Individuums, die folglich stark variieren kann. Die verbleibenden 10 % entstehen beim gesunden Menschen mit Mischkosternährung durch die nahrungsinduzierte Thermogenese, bei der durch Resorption, sowie Verarbeitung und Deposition der aufgenommenen Nährstoffe Energie verbraucht und Wärme freigesetzt wird. Wann immer also Nahrung aufgenommen wird, ist eine erhöhte Thermogenese, als Zeichen der gesteigerten Arbeit zur Assimilation der Nahrungsbestandteile, die Konsequenz. Determinierend sind dabei vorrangig der Energiegehalt und der Anteil an Proteinen in der aufgenommenen Nahrung. Der Anteil an Proteinen scheint auch in der Nahrung entscheidend zu sein für das Erlangen eines Sättigungsgefühls (Kreymann et al., 2009). Obwohl die nahrungsinduzierte Thermogenese nur einen kleinen Teil des täglichen Energiebedarfs ausmacht spielt sie anscheinend eine entscheidende Rolle in der Entstehung und Erhaltung eines erhöhten Körpergewichts (Westerterp, 2004). So konnten de Jonge und Bray bei einer zusammenfassenden Beurteilung von Studien, die die nahrungsinduzierte Thermogenese von adipösen und schlanken Probanden verglich, in vielen Fällen zeigen, dass adipöse Probanden eine signifikant niedrigere postprandiale Thermogenese aufwiesen als die schlanken Teilnehmer (de Jonge und Bray, 1997). Der postprandiale Anstieg des Energieumsatzes lässt sich für mehrere Stunden nachweisen und scheint erst ca. zehn Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme zu enden. Reed und Hill analysierten bei 131 Probanden die Thermogenese nach unterschiedlich großen und in den Nahrungskomponenten variierenden Testmahlzeiten und konnten noch

nach sechs Stunden einen erhöhten Energieumsatz feststellen, insbesondere bei übergewichtigen Probanden (Reed und Hill, 1996).

Dass das Hormon Insulin eine Rolle in der Kontrolle der Thermogenese spielen könnte wurde bereits 1991 bei der Untersuchung von Ratten gezeigt. Menendez und Atrens injizierten verschiedene Insulindosen in den paraventriculären Hypothalamus der Tiere und untersuchten die Effekte mittels indirekter Kalorimetrie. Bei dieser wird durch Messung der Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidkonzentrationen in der Expirationsluft und der Berechnung der Sauerstoffaufnahme und Kohlenstoffdioxidabgabe der Energieumsatz bestimmt (siehe 2.4.2). In der Studie zeigte sich, dass eine Injektion von 40 mU Insulin zu einer signifikanten Erhöhung des Energieumsatzes bei den Ratten führte. Die Autoren vermuteten, dass dieser erhöhte Energieverbrauch durch eine gesteigerte Thermogenese verursacht wird. Vermittelt wird dieser Effekt des Insulins am ehesten über das sympathische Nervensystem, genauer über den paraventriculären Hypothalamus, der anatomische und funktionelle Verbindungen mit sympathischen Nervenfasern besitzt. Als markante Größe des Energieumsatzes wurde der respiratorische Quotient (RQ) benutzt, der postprandial bei einer Nahrungszusammensetzung aus Kohlenhydraten, Fett und wenig Protein Werte von ca. 0,90 annimmt. Bei einer Verdauung von Fett verringert sich dieser Wert auf 0,70, während Kohlenhydrate zu einem postprandialen RQ von ca. 1,0 führen. Durch die Injektion von 40mU Insulin wurde eine durchgängige Senkung des RQs auf Werte um 0,80 erreicht. Menendez und Atrens erklärten diese Senkung mit einer tendenziell vermehrten Verdauung von Fetten durch die Insulininjektion. Zusammenfassend scheint Insulin über seine Rezeptoren im paraventriculären Hypothalamus die postprandiale Thermogenese bei Ratten signifikant zu erhöhen und so zusammen mit seinen anderen zentralen Effekten, wie verminderter Nahrungszufuhr und erhöhtem Fettkatabolismus, einen starken katabolischen Effekt auszuüben (Menendez und Atrens, 1991).

In einer neueren Studie von 2010 konnten Sanchez-Alavez und Mitarbeiter bei Mäusen beweisen, dass die Injektion von Insulin in die präoptische Region des Hypothalamus zu einer dosisabhängigen signifikanten Erhöhung der Kernkörpertemperatur führt. Diese wird vermutlich verursacht durch die Stimulation der Thermogenese im braunen Fettgewebe. Insulin scheint direkt Wärme-sensible hypothalamische Neurone zu stimulieren, die für die Regulation

der Thermogenese und der Kernkörpertemperatur entscheidend sind (Sanchez-Alavez et al., 2010).

1.4 Die intranasale Applikation

Im Blutkreislauf zirkulierendes Insulin erreicht das ZNS durch Überwindung der Blut-Hirn-Schranke mittels eines aktiven, rezeptorvermittelten Transportsystems, welches an den Endothelzellen von Mikrogefäßen lokalisiert ist (Woods et. al, 2003). Dass dieses Transportsystem sättigbar ist, konnte bereits 1993 von der Forschergruppe um Baura bei Hunden nachgewiesen werden (Baura et al., 1993).

Schon seit langer Zeit ist bekannt, dass es einen direkten Zugangsweg von der Nasenschleimhaut über den ersten Hirnnerven, den Nervus olfactorius, in das zentrale Nervensystem gibt (Krompecher, 1954). Die menschliche Nase kann in drei Regionen eingeteilt werden: die Nasenhöhle, die olfaktorische Region und die respiratorische Region. Bei einem erwachsenen Menschen ist die olfaktorische Region ca. 10 cm² groß und befindet sich direkt unterhalb der Lamina cribrosa des Os ethmoideum, durch welches die Nasenhöhle vom Gehirn getrennt wird. Im olfaktorischen Epithelium befinden sich, neben Epithelzellen und Basalzellen, bipolare Sinneszellen, welche in Richtung des Nasenlumens Riechrezeptoren besitzen, die diverse Moleküle aus der Atemluft binden und so die Sinneszelle aktivieren. An der basalen Seite dieser Chemorezeptoren befindet sich ein einzelnes nicht-myelinisiertes Axon, welches durch die Basalmembran zieht und sich mit anderen Axonen zu Bündeln in der Lamina cribrosa verbindet. Diese sogenannten Fila olfactoria werden von Schwannzellen umhüllt und bilden zusammen den Nervus olfactorius, der in die Schädelhöhle zieht.

Es gibt drei denkbare Wege über die eine intranasal applizierte Substanz von der Nasenhöhle über das olfaktorische Epithel und die Lamina arachnoidea den cerebrospinalen Liquor und das Hirnparenchym erreichen kann: 1. transzellulär, meistens per rezeptorvermittelter Endozytose oder passiver Diffusion, 2. parazellulär durch tight junctions oder 3. über den olfaktorischen Nerv, wobei die Substanz per Endozytose oder Pinozytose in das Neuron gelangt und dann durch intrazellulären axonalen Transport den Bulbus olfactorius erreicht (Illum, 2000). Die Menge des absorbierten Stoffes über die drei verschiedenen Wege ist maßgeblich abhängig von der Charakteristik der Substanz, insbesondere

dem Molekulargewicht und der lipophilen Eigenschaft (Sakane et al., 1991; Sakane et al., 1995).

Der zuletzt beschriebene transneurone Weg ist sehr langsam, so dass eine applizierte Substanz frühestens nach 24 Stunden das ZNS erreicht (Kristensson und Olsson, 1971). Dieser Weg kann also nicht den in mehreren Studien für verschiedene Stoffe nachgewiesenen schnellen Anstieg der Konzentration des jeweiligen Stoffes im Liquor erklären. So kam es beispielsweise bei der intranasalen Gabe von 40 I.E. Humaninsulin zu einer signifikanten Maximalkonzentration des Hormons im Liquor nach einer halben Stunde, wobei dieser Effekt vollständig unabhängig war von der gleichzeitig gemessenen peripheren Konzentration des Insulins im Serum (Born et al., 2002). Dieses Ergebnis deutet an, dass sogar große Moleküle wie Insulin über einen direkten, wahrscheinlich extrazellulären schnellen Weg, den Liquor erreichen und so zentralnervöse Funktionen beim Menschen ausüben. Das intranasale Applikationsverfahren ermöglicht folglich den direkten Übergang von Insulin aus der Nase in den cerebrospinalen Liquor ohne dabei periphere Nebenwirkungen, wie Hypoglykämien, zu verursachen.

1.5 Fragestellung

In vielen vorangegangenen Versuchsreihen konnte eine Vielzahl von zentralen Wirkungen des Insulins auf den Energiehaushalt des Körpers beobachtet werden. Es zeigte sich, dass das Hormon katabole Funktionen ausübt und so zum Beispiel die Nahrungsaufnahme reduziert (Benedict et al., 2008) und zu einer signifikanten Reduktion des Körpergewichts und des Körperfettgehalts bei normalgewichtigen gesunden Männern führt (Hallschmid et al., 2004). Die katabole Wirkung des zentralnervösen Insulins könnte durch eine Steigerung der nahrungsinduzierten Thermogenese noch potenziert werden. So konnte bei Ratten die postprandiale Thermogenese signifikant durch eine paraventrikuläre Injektion von 40 mU Insulin in den Hypothalamus erhöht werden (Menendez und Atrens, 1991). Eine solche intrahypothalamische Injektion ist in einem Humanversuch nicht möglich und eine intravenöse Injektion des Hormons führt zu zahlreichen Nebenwirkungen, wie zum Beispiel schweren Hypoglykämien. Ein Alternativweg zur Untersuchung der zentralen Wirkung des Hormons ist die oben beschriebene intranasale Insulingabe. Es stellt sich die Frage, ob eine intranasale Gabe von Insulin bei gesunden normgewichtigen jungen Männern zu einer Erhöhung der nahrungsinduzierten Thermogenese und somit zu einem erhöhten Energieverbrauch führt, was in tierexperimentellen Arbeiten bereits gezeigt werden konnte, und ob diese Erhöhung eine Ursache für die von Hallschmid und Mitarbeitern 2004 nachgewiesene Körperfettreduktion (siehe oben) sein könnte.

Die Hauptfrage dieser Arbeit ist demnach: Führt eine intranasale Insulingabe bei normalgewichtigen gesunden Männern zu einer Steigerung der postprandialen nahrungsinduzierten Thermogenese?

Auch der Glukosestoffwechsel wird, wie oben ausgeführt, von zentralnervösen Insulinsignalwegen beeinflusst. Die Forschergruppe um Pocai konnte 2005 beweisen, dass Insulin über eine Aktivierung zentraler ATP-sensitiver Kaliumkanäle (K_{ATP}) im Hypothalamus in den Glukosestoffwechsel eingreift und so eine extrahepatische Hemmung der Glukosesynthese verursacht (Pocai et al., 2005). Bei Ratten gelang es über eine intraventrikuläre Infusion von Insulin die Glukoseneubildung unabhängig von der peripheren Insulinkonzentration zu hemmen (Obici et al., 2002a). Ob diese zentrale Regulation des Glukosehaushaltes auch durch eine einmalige intranasale Gabe des Hormons bei den untersuchten Probanden beobachtet werden kann, soll durch Bestimmung der

peripheren Blutkonzentrationen von Insulin, C-Peptid, Glukose und freien Fettsäuren ergründet werden.

Die zweite Frage dieser Arbeit lautet folglich: Beeinflusst eine einmalige zentralnervöse Gabe von Insulin den (postprandialen) menschlichen Glukosehaushalt?

2. Material und Methoden

2.1 Probanden

An der Studie nahmen 19 normalgewichtige (BMI $23,5 \pm 0,3 \text{ kg/m}^2$) Männer zwischen 18 – 30 Jahren (Durchschnittsalter $23,5 \pm 0,6$ Jahre) teil. Die Probanden wurden über öffentliche Aushänge gesucht. Alle Teilnehmer waren gesund und nahmen zum Zeitpunkt der Studie keine Medikamente ein. Alle Männer waren Nichtraucher.

Vor Beginn der Versuche wurde bei allen Teilnehmern eine körperliche Untersuchung durchgeführt, sowie Blutproben durch die Labormedizin der Universität zu Lübeck untersucht. Die in der Studie angewandten Methoden und Risiken einer intranasalen Insulingabe wurden mündlich und schriftlich erläutert und alle Probanden gaben danach eine schriftliche Einverständniserklärung ab. Die Studie erfolgte nach Genehmigung durch die Ethikkommission der Universität zu Lübeck.

Um die Konstanz der Bedingungen zwischen den beiden Versuchstagen zu kontrollieren, z.B. der körperlichen Aktivität oder der kognitiven Leistungen, wurden jeweils verschiedene technische und psychologische Verfahren verwendet (Actiheart-Messung ab 17.00 Uhr des Tages vor dem Versuch zur Kontrolle der Herzaktivität; Stanford-Schläfrigkeitsskala, Viscale, n-back task, sowie Interferenz-Wortpaarlisten zur Messung der Aufmerksamkeit der Probanden).

Mit Hilfe einer Körperwaage und einer bioelektrischen Impedanzanalyse (BIA 2000-M; Data input, Frankfurt, Deutschland) wurde die Konstanz des Körpergewichts und der Körperzusammensetzung zwischen den beiden Versuchstagen überprüft. Nach Abschluss der Untersuchungen erhielten die Studienteilnehmer jeweils eine Aufwandsentschädigung von 150 Euro.

2.2 Studiendesign

Es handelte sich um eine doppelblinde, placebokontrollierte, randomisierte Studie. Je Proband fanden zwei Versuchstage statt, an denen dem Studienteilnehmer einmal Insulin intranasal und einmal ein Placebo intranasal verabreicht wurde. Zwischen den beiden Versuchstagen lag ein Mindestabstand von vier Wochen.

2.3 Versuchsablauf

Der Versuchstag begann morgens um 07.00 Uhr, nachdem der Proband am Vorabend bereits mit einem Actiheart-Messgerät zur Überwachung seiner Herzfrequenz versorgt worden war. Alle Probanden wurden instruiert, ab 16.00 Uhr des Vortages keiner sportlichen Aktivität mehr nachzugehen und auf das Trinken alkoholischer und/oder koffeinhaltiger Getränke zu verzichten. Ab 20.00 Uhr durften die Teilnehmer keine Nahrung mehr zu sich nehmen. Um 23.00 Uhr des Vortages mussten sie zu Bett gehen und am Versuchstag nur mit dem Auto oder öffentlichen Verkehrsmitteln zum Untersuchungslabor fahren, um eine zu starke Steigerung der körperlichen Aktivität zu verhindern.

Sofort nach Ankunft im Labor wurden die Studienteilnehmer mit einem peripheren Venenverweilkatheter (Vasofix ® Braunüle ®, B.Braun, Melsungen, Deutschland) versorgt, über den die Blutproben entnommen werden konnten. Um eine Durchgängigkeit des Katheters zu gewährleisten wurde ein Liter Kochsalzlösung über einen Dreiwegehahn angeschlossen.

Des Weiteren erfolgte die Bestimmung der Körpergröße und des Körpergewichts, sowie die Überprüfung der Körperzusammensetzung mittels BIA. Hiernach begaben sich die Probanden unverzüglich in ein Bett, in dem sie auf dem Rücken liegend bis zur Beendigung des Versuches um 17.30 Uhr des gleichen Tages verblieben. Das Bett befand sich in einem ruhigen und gleichbleibend temperierten (23 °C) Versuchsraum.

Abbildung 4 gibt einen Überblick über den Aufbau des Experiments. Der Ruhe-Energieverbrauch der Probanden wurde um 8.30 Uhr mittels indirekter Kalorimetrie bestimmt (Deltatrac II, MBM-200 Metabolic Monitor, Datex-Engström, Achim, Deutschland). Von 9.10 Uhr bis 9.40 Uhr wurden insgesamt 1,6 ml Insulin oder Placebo intranasal appliziert. Nach der anschließenden zweiten indirekten Kalorimetriemessung (siehe unten) nahmen die Teilnehmer 20 ml/min einer standardisierten Flüssignahrung (Fresubin ® energy drinks, Fresenius Kabi, Bad Homburg, Deutschland), insgesamt 600 ml, von 10.15 Uhr- 10.45 Uhr zu sich (900 kcal; 33,6 g Proteine; 34,8 g Fett und 112,8 g Kohlenhydrate).

Danach folgten fünf weitere jeweils halbstündige kalorische Messungen zwischen 10.45 Uhr und 15.15 Uhr (siehe Abb.4). Zwischen den einzelnen

Messungen lagen halbstündige Pausen, in denen die Belüftungshaube des Kalorimetrieerätes von den Probanden nicht getragen wurde.

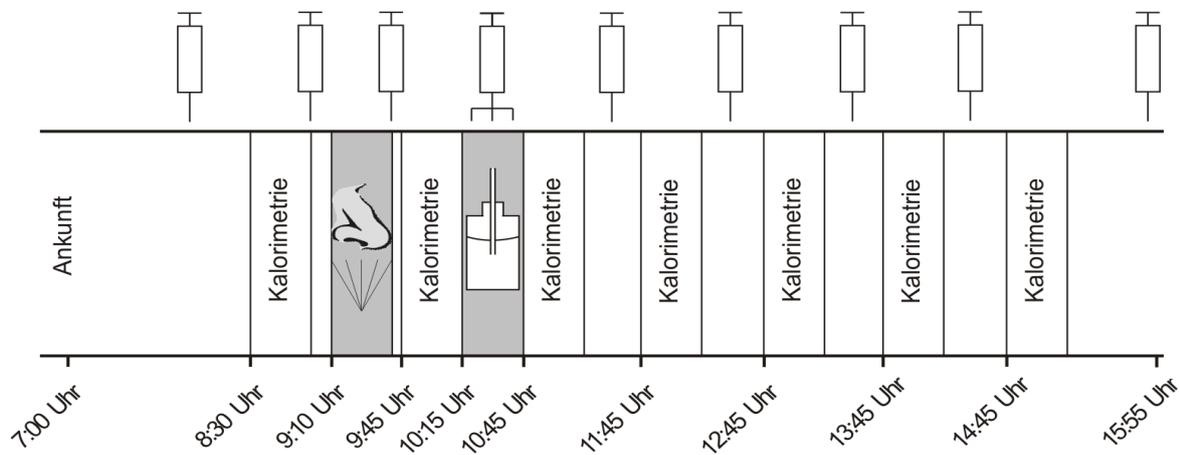


Abbildung 4. Versuchsablauf. Neunzehn gesunde Probanden, die seit 20.00 Uhr des Vorabends keine Nahrung mehr zu sich genommen haben, verbringen den Versuchstag in auf dem Rücken liegender Position im Versuchsbett. Die Messungen des Energieverbrauchs werden in 30-minütigen Intervallen mittels indirekter Kalorimetrie durchgeführt. Dabei erfolgt die erste Messung als Baseline-Messung (08.00-08.30 Uhr), eine weitere sofort nach intranasaler Injektion (09.45-10.15 Uhr, 1,6 ml (160 IU) Insulin oder Placebo, Symbol: Nase) und fünf weitere nach Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost von 900 kcal (Symbol: Flasche). Die durchgeführten Blutabnahmen zur Bestimmung der peripheren Plasmakonzentrationen von Insulin, C-Peptid, Glukose und freien Fettsäuren werden durch die Spritzensymbole dargestellt.

Für die Messung des Plasma-Glukose-Spiegels, sowie der Serumkonzentration von Insulin, C-Peptid und freien Fettsäuren (free fatty acids = FFAs) wurden Blutproben um 8.00 Uhr und 9.00 Uhr, direkt nach der intranasalen Insulin-/Placebogabe um 9.45 Uhr, alle zehn Minuten während der Flüssigkostaufnahme (10.20 Uhr - 10.40 Uhr) und schließlich in stündlichen Intervallen (11.30 Uhr - 14.30 Uhr) mit einer letzten Abnahme um 16.00 Uhr über den peripheren Venenverweilkatheter entnommen. Vor jeder neuen Entnahme wurde der venöse Zugang mit Kochsalzlösung gespült und das zuerst entnommene Blut verworfen. Direkt nach der Entnahme wurden die Blutproben zentrifugiert, danach das Plasma pipettiert und bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur laborchemischen Untersuchung aufbewahrt.

Die Konzentration der plasmatischen Glukose wurde in Fluoridplasma mittels Hexokinase-Methode gemessen (Hexokinase-Methode, Aeroset, Abbott Diagnostics, North Chicago, IL). Dabei wird die Konzentration von Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) mittels Photometer gemessen, welches bei der Verstoffwechslung der Glukose durch das Enzym Hexokinase entsteht. Die Serumkonzentrationen von Insulin und C-Peptid wurden mittels Immulite® 1000 Systemen bestimmt (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland), bei denen nach 60-minütiger, bzw. 30-minütiger (C-Peptid) Inkubationszeit der Probandenprobe mit einer Testreagenz durch Antikörper-Antigen-Reaktionen die Konzentration der zu messenden Substanzen bestimmt wird (Insulin: Nachweisgrenze 14,43 pmol/l, Intraassay-Variationskoeffizient (VK) 6,4 %, Gesamt-VK \leq 8 %; C-Peptid: Nachweisgrenze 16,55 pmol/l, Intraassay-VK \leq 3,3 %, Gesamt-VK \leq 5,5 %). Die analytische Sensitivität des Insulinessays liegt bei 2 μ IU/ml. Bis zu 70.000 μ IU/ml lässt sich kein High-Dose-Hook-Effekt nachweisen. Hinsichtlich der analytischen Sensitivität des C-Peptid-Essays findet sich ein eine Blank-Grenze (höchster zu erwartender Wert bei Abwesenheit des Analyten in der Probe) von 0,05 ng/ml und eine untere Nachweisgrenze (niedrigste zu messende Konzentration) von 0,09 ng/ml. Die funktionelle Sensitivität (niedrigste Konzentration mit einem CV von 20 %) liegt bei 0,09 ng/ml. Bis zu einer Konzentration von 3560 ng/ml lässt sich kein High-Dose-Hook-Effekt nachweisen. Die Konzentration der freien Fettsäuren wurde mittels photometrischer enzymatischer Verfahren bestimmt (half-micro test, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland).

2.3.1 Intranasale Insulin-/ Placebogabe

Die Insulin- bzw. Placebolösung wurde von 9.10 Uhr bis 9.40 Uhr in sechzehn 0,1 ml-Sprühstößen (acht pro Nasenloch) intranasal in 2-minütigen Intervallen appliziert. Daraus ergab sich eine Gesamtdosis von 1,6 ml pro Versuchstag, welches 160 IU Insulin entspricht. Bei den verwendeten Nasenspraylösungen handelte es sich um Insulin Actrapid (Novo Nordisk, Mainz, Deutschland) oder um die Trägersubstanz HOE 31 dilution buffer (Aventis Pharma, Bad Soden, Deutschland). Beide Substanzen wurden mit Hilfe von Präzisions-Nasensprays (Aero Pump, Hochheim, Deutschland) verabreicht.

2.4 Darstellung der Einzeluntersuchungen

2.4.1 Körpergröße und Körpergewicht

Direkt nach Ankunft der Probanden im Untersuchungslabor wurde an beiden Versuchstagen die Körpergröße mit Hilfe einer Messlatte auf 0,5 cm genau am stehenden, barfüßigen Probanden ermittelt. Zur Ermittlung des Körpergewichts zum gleichen Zeitpunkt wurde eine geeichte mechanische Säulenwaage der Firma Seca benutzt. Bei jeder Messung wurde darauf geachtet, dass der Proband ruhig und mit gleichmäßig verteiltem vollem Gewicht auf der Waage stand.

Aus den erhaltenen Ergebnissen wurde der Body Mass Index (BMI) nach folgender Formel errechnet:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht (kg)} / [\text{Körpergröße (m)}]^2$$

Die Konstanz der Körperzusammensetzung zwischen den Versuchstagen wurde mittels bioelektrischer Impedanz-Analyse (*Bioelectrical Impedance Analyzer* BIA 2000–M der Firma Data Input GmbH, Frankfurt am Main) überprüft, einem validierten Verfahren, bei dem der Gesamtwiderstand des Körpers (Impedanz, Z) gegen einen elektrischen Wechselstrom gemessen wird. Die BIA beruht auf einem Drei-Kompartimentmodell des menschlichen Körpers, bestehend aus der Fettmasse, der Körperzellmasse und der Extrazellulärmasse. Die sogenannte Impedanz ist definiert als Gesamtwiderstand eines biologischen Leiters gegen Wechselstrom und setzt sich aus zwei Anteilen zusammen, der Resistance (R) und der Reactance (Xc). Dabei ist die Resistance definiert als der reine (ohmsche) Widerstand des elektrolythaltigen Gesamtkörperwassers und die Reactance als kapazitiver Widerstand, der durch die Kondensatoreigenschaften jeder Körperzelle durch ihre Protein-Lipid-Schicht entsteht. Aus den ermittelten Reactance- und Resistance-Werten können mit Hilfe von Formeln Fettmasse, fettfreie Masse und Gesamtkörperwasser (Total Body Water, TBW) der Probanden bestimmt werden. Die Formeln berücksichtigen dabei Körpergewicht, Körpergröße, Geschlecht und Alter der Studienteilnehmer (aus www.data-input.de).

2.4.2 Die indirekte Kalorimetrie

Ein bewährtes Verfahren zur Messung des Energieverbrauchs eines Menschen in Ruhe stellt die indirekte Kalorimetrie dar. Bei ihr wird durch Ermittlung des Sauerstoffverbrauchs und der Kohlenstoffdioxidproduktion indirekt die Wärmeproduktion des Körpers bestimmt und hieraus der Energieverbrauch errechnet. Bei der Bildung des Energieträgers ATP wird im Körper Sauerstoff verbraucht und Wärme produziert, so dass jede Entstehung eines ATP mit einer bestimmten Wärmemenge verbunden ist, die über den Sauerstoffverbrauch bestimmt werden kann. Eine mögliche Form der Berechnung ist die folgende Formel nach Weir aus dem Jahre 1949:

$$REE = 1,44 \times (3,9 \times VO_2 + 1,1 \times VCO_2)$$

Bei der Verbrennung einer bestimmten Substanz im Körper mit 1 l Sauerstoff entsteht eine gewisse freigesetzte Energiemenge. Dieses Verhältnis wird als kalorisches Äquivalent bezeichnet (Tab. 1).

Substanz	Sauerstoffverbrauch (l/g)	Kohlenstoffdioxidabgabe (l/g)	Kalorisches Äquivalent (kJ/l O ₂)	RQ
Glukose	0,746	0,746	20,8	1,000
Fett	2,019	1,427	19,3	0,707
Protein	0,966	0,774	19,4	0,801

Tab. 1. Brennwerte und kalorisches Äquivalent der Makronährstoffe.

Mit diesem Parameter kann die entstandene Wärmemenge bei Verbrennung einer Substanz aus dem dabei gemessenen Sauerstoffverbrauch bestimmt werden, ohne dass die tatsächliche Substanzmenge bekannt ist.

Der respiratorische Quotient (RQ) reflektiert ausgehend vom Gleichgewicht die Mischung der Makronährstoffe, die zur Energiegewinnung metabolisiert werden. Er berechnet sich nach der Formel:

$$RQ = \frac{VCO_2}{VO_2}$$

Der respiratorische Quotient nimmt je nach Nährstoff folgende Werte an:

RQ - Kohlenhydrate	= 1,0
RQ – Fett	= 0,7
RQ – Protein	= 0,81

Zur Messung des Energieverbrauchs der Probanden wurde das Gerät *Deltatrac II, MBM-200 Metabolic Monitor* der Firma *Datex-Engström Deutschland, Achim*, verwendet. Bei diesem System handelt es sich um ein offenes Haubensystem, bei dem eine kontinuierliche Messung der CO₂-Produktion und des O₂-Verbrauchs während der jeweils halbstündigen Datenerfassung stattfindet. Dabei wird Raumluft durch die Atemhaube mit einem Luftfluss (Flow) gepumpt, wobei die Flowmenge (l/min) abhängig ist vom Körpergewicht des Studienteilnehmers. Die Messung der Atemgase (Sättigung) erfolgt gleichzeitig in der Ein- und Ausatemluft. Die ausgeatmeten Gase werden nach der Dilutionsmethode in einem konstanten, bekannten Flow (Raumluft) verdünnt und analysiert.

Vor der Datenerfassung wurde das Gerät an jedem Versuchstag nach mindestens halbstündiger Warmlaufzeit mit einem 5% CO₂ und 95% O₂ enthaltendem Kalibrationsgas kalibriert. Alle Probanden befanden sich während der insgesamt sieben Messungen in Rückenlage im Versuchsbett. Es wurde darauf geachtet die Raumtemperatur konstant zu halten und Geräusche zu vermeiden. Die Teilnehmer wurden angewiesen während der Messung ruhig und gleichmäßig zu atmen, nicht zu sprechen oder zu schlafen.

Aus den ermittelten Daten erfolgte die Berechnung des Energieumsatzes der Probanden nach der Näherungsformel von Harris-Benedict:

$$E(\text{kcal}) = 3,866 * (\text{VO}_2) + 1,200 * (\text{VCO}_2) - 0,299 * \text{Protein (g)}$$

E =	Energieumsatz in kcal
(VO ₂) =	Sauerstoffverbrauch in l
(VCO ₂) =	Kohlenstoffdioxidproduktion in l
Protein (g) =	Harnstickstoffausscheidung in g * 6,25

2.5 Statistische Methoden

Alle Daten werden präsentiert als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM). Die Statistik beruht auf Varianzanalysen (ANOVA) mit den sich wiederholenden Faktoren „Bedingung“ und „Zeit“ (bezogen auf das Zeitintervall sofort nach intranasaler Applikation und die postprandiale Periode). Die Konzentrationen der postprandialen Glukose und der Hormone (10.20 Uhr – 16.00 Uhr) werden als Flächen unter der Kurve (AUC) dargestellt. Für die Einzelzeitvergleiche wurden zweiseitige post hoc-t-Tests verwendet. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert $< 0,05$ angesehen.

3. Ergebnisse

3.1 Indirekte Kalorimetrie

Die Auswertungen ergaben, dass die Grundlinien-Messungen des jeweiligen Versuchstages um 8.30 Uhr und die kalorimetrischen Messungen sofort nach der intranasalen Gabe von Insulin um 9.45 Uhr keine Unterschiede im ermittelten Energieverbrauch der Probanden zwischen den beiden Bedingungen Insulin und Placebo zeigten ($p > 0,19$ für alle Vergleiche; Abb. 5).

Nach Aufnahme der hochkalorischen standardisierten Flüssigkost, beginnend um 10.15 Uhr, ergab sich ein um durchschnittlich 17 % höherer Energieumsatz nach Insulinapplikation verglichen mit dem ermittelten Energieverbrauch der Studienteilnehmer nach Placeboeinnahme ($p < 0,05$ für den „Insulin/Placebo“-Höchst-Effekt). Diese Ergebnisse zeigen, dass durch das intranasal applizierte Insulin, verglichen mit intranasaler Placeboapplikation, ein höherer postprandialer Energieverbrauch bei den untersuchten Probanden auftrat.

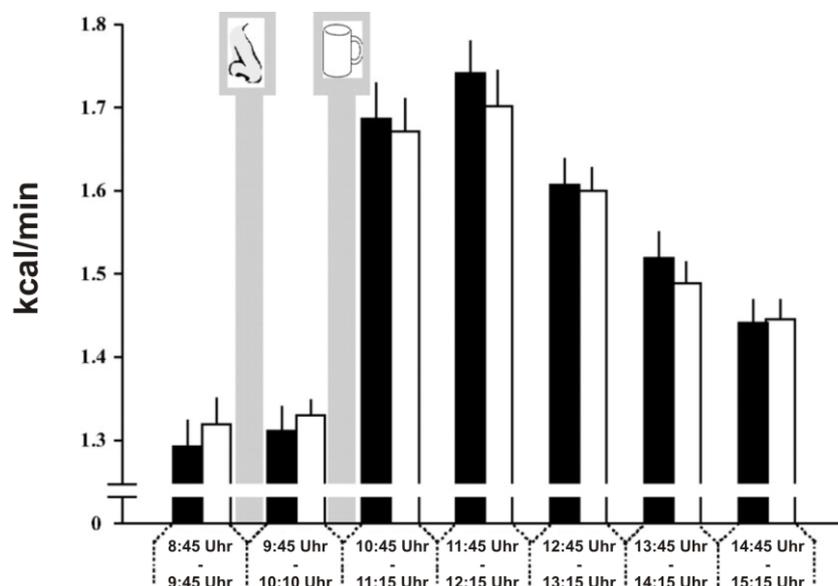


Abbildung 5. Intranasal appliziertes Insulin erhöht den postprandialen Energieverbrauch. Nach Messung des Grundlinien-Energieverbrauchs (gemessen in kcal/min) wurden der akute Effekt der intranasalen Gabe (Symbol: Nase) von Insulin (160 IU) (schwarze Balken) und Placebo (weiße Balken) auf den Energieverbrauch vor und nach Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost (900 kcal, Symbol: Tasse) für insgesamt 6,5 Stunden in 30-minütigen Intervallen bestimmt. Daten als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM); $n = 19$; $p < 0,05$.

Die folgende Abbildung 6 zeigt ebenfalls die Erhöhung des postprandialen Energieverbrauchs nach intranasaler Insulingabe im Vergleich zur Placeboapplikation, hier dargestellt als Fläche unter der Kurve.

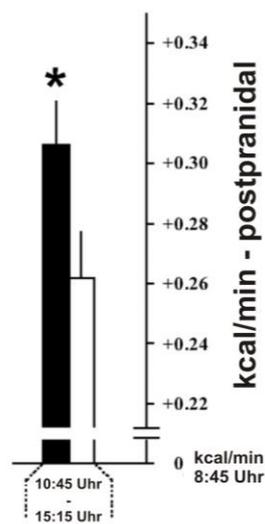


Abbildung 6. Intranasal appliziertes Insulin erhöht den postprandialen Energieverbrauch, dargestellt als Fläche unter der Kurve. Der Anstieg des Energieverbrauchs zwischen der Grundlinien-Messung (08.00-09.45 Uhr) und den postprandialen Zeitpunkten (10.45-15.15 Uhr) reflektiert die Energie, welche als Wärme durch die Metabolisierung der Nahrung entsteht (postprandiale oder nahrungsinduzierte Thermogenese).

3.2 Blutzucker und Hormone

Für die Konzentrationen der plasmatischen Glukose, des Insulins und der freien Fettsäuren im Serum der Probanden ergab sich kein Unterschied zwischen den beiden Bedingungen Insulin und Placebo während der Grundlinien-Messungen um 8.00 Uhr und 9.00 Uhr des jeweiligen Versuchstages ($p > 0,25$).

3.2.1 Glukose

Sofort nach Verabreichung des intranasalen Insulins um 9.40 Uhr kam es zu einem geringen kurzzeitigen Abfall des Nüchternblutzuckers (Insulin vs. Placebo, $4,5 \pm 0,1$ vs. $4,7 \pm 0,1$ mmol/l ; $p < 0,02$ für den größten „Insulin/Placebo“ Effekt). Jedoch zeigte sich kein Unterschied in dem darauf folgenden gemessenen postprandialen Anstieg der Glukosekonzentration ($AUC_{10,20Uhr AM-4}$, Insulin vs. Placebo, 1574 ± 23 vs. 1570 ± 20 mmol/l*min; $p > 0,90$) (siehe Abb. 7).

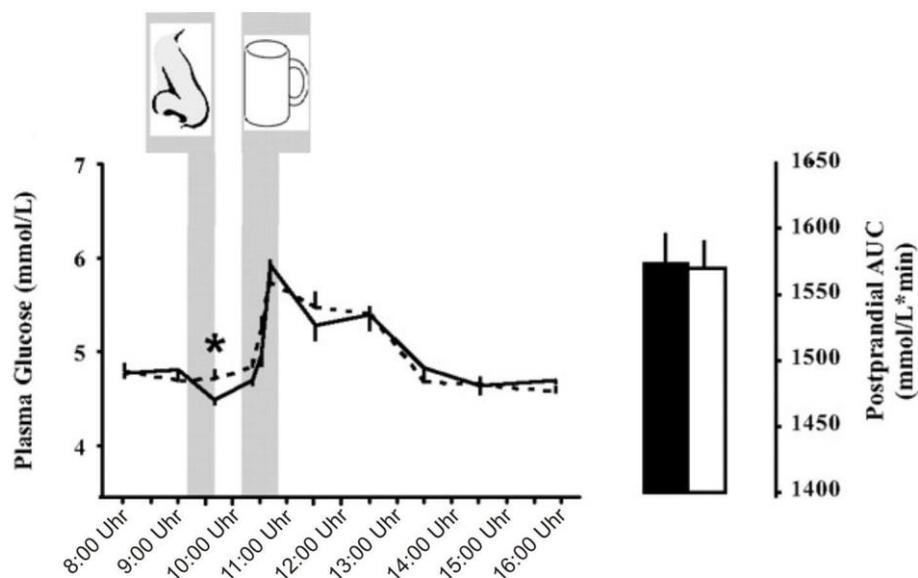


Abbildung 7. Die Konzentration der plasmatischen Glukose. Darstellung der Glukosekonzentration vor und nach intranasaler Applikation (Symbol: Nase) von Insulin (160 IU; durchgezogene Linie und schwarzer Balken) oder Placebo (gestrichelte Linie und weißer Balken) und gefolgt von der Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost von 900 kcal (Symbol: Tasse). Die postprandialen Konzentrationen werden außerdem als Area under the curve (AUC, rechte Abbildung) dargestellt. Alle Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM). $n = 19$; $p < 0,01$.

3.2.2 Insulin

Parallel zu dem beobachteten geringen Blutzuckerabfall direkt nach intranasaler Insulinsubstitution ließ sich ein geringer Anstieg der Insulin-Serumkonzentration feststellen (Insulin vs. Placebo, $40,1 \pm 6,3$ vs. $22,6 \pm 3,0$ pmol/l, $p < 0,01$).

Nach Aufnahme der hochkalorischen Flüssigkost am Vormittag war der postprandiale Konzentrationsanstieg des Hormons nach vorheriger intranasaler Insulingabe im Vergleich zur Placebobedingung deutlich verringert ($AUC_{10:20-16:00}$, Serum-Insulin $45,521 \pm 5,052$ vs. $62,315 \pm 4,973$ pmol/l/min; $p < 0,003$) (siehe Abb. 8).

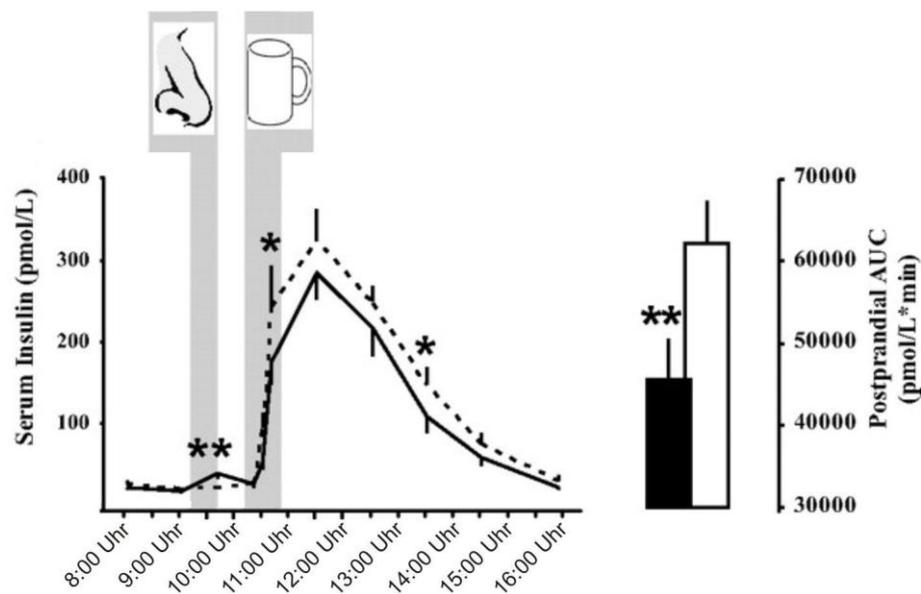


Abbildung 8. Die Konzentration des Seruminsulins. Die Insulinkonzentration vor und nach intranasaler Applikation (Symbol: Nase) von Insulin (160 IU; durchgezogene Linie und schwarzer Balken) oder Placebo (gestrichelte Linie und weißer Balken) und gefolgt von der Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost von 900 kcal (Symbol: Tasse). Die postprandialen Konzentrationen werden außerdem als Area under the curve (AUC, rechte Abbildung) dargestellt. Alle Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM). $n = 19$; $p < 0,01$.

3.2.3 C-Peptid

Nach der Insulingabe zeigte sich, wie oben beschrieben, ein geringer Anstieg der Seruminsulinkonzentrationen, wobei keine gleichzeitige Erhöhung des C-Peptids gemessen werden konnte ($0,34 \pm 0,02$ vs. $0,37 \pm 0,03$ nmol/l, $p > 0,31$).

Nach Aufnahme der hochkalorischen Flüssigkost stellte sich in der Insulinbedingung ein im Vergleich zur Placebobedingung verringerter postprandialer Konzentrationsanstieg von C-Peptid im Serum ein ($AUC_{10:20-16:00}$, Serum-Insulin $45,521 \pm 5,052$ vs. $62,315 \pm 4,973$ pmol/l/min; Serum-C-Peptid 409 ± 30 vs. 487 ± 33 nmol/l/min; $p < 0,003$ und $p < 0,02$) (siehe Abb.9).

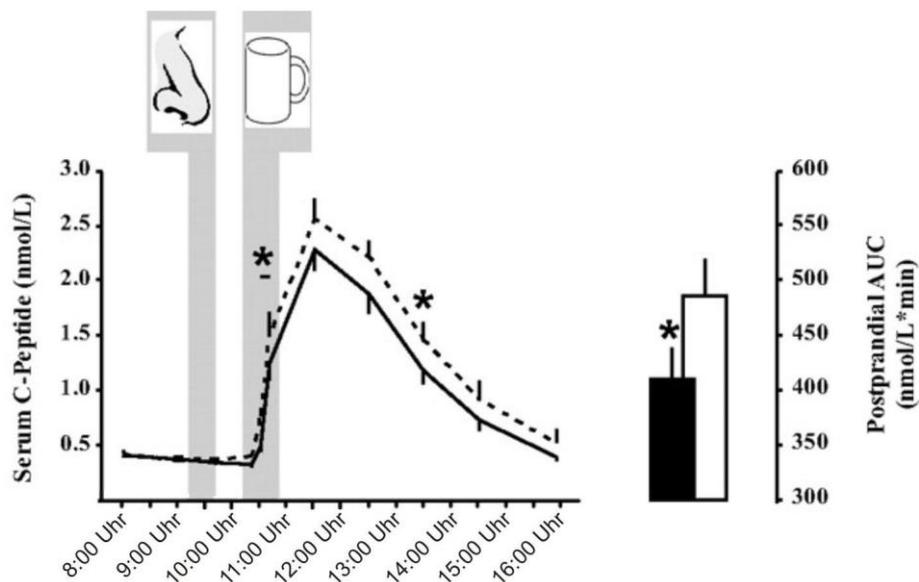


Abbildung 9. Die Konzentration des C-Peptids. Die C-Peptidkonzentration vor und nach intranasaler Applikation (Symbol: Nase) von Insulin (160 IU; durchgezogene Linie und schwarzer Balken) oder Placebo (gestrichelte Linie und weißer Balken) und gefolgt von der Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost von 900 kcal (Symbol: Tasse). Die postprandialen Konzentrationen werden außerdem als Area under the curve (AUC, rechte Abbildung) dargestellt. Alle Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM). $n = 19$; $p < 0,01$.

3.2.4 Freie Fettsäuren

Die Serumkonzentration der freien Fettsäuren fiel in der Insulinbedingung im Vergleich zur Placebobedingung während der Nahrungsaufnahme kurzzeitig ab ($p < 0,01$). Allerdings zeigte sich kein Unterschied in den im Folgenden ermittelten Serumkonzentrationen in der postprandialen Periode ($AUC_{10:20-16:00}$, Insulin vs. Placebo $53,7 \pm 4,6$ vs. $56,6 \pm 4,2$ mmol/l/min; $p < 0,60$) (siehe Abb.10).

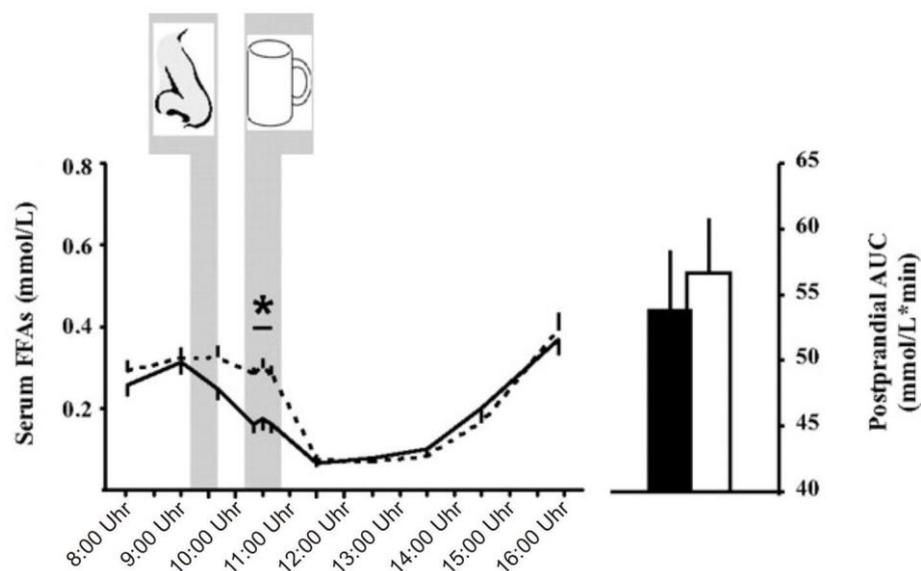


Abbildung 10. Die Konzentration der freien Fettsäuren. Die Fettsäurenkonzentration vor und nach intranasaler Applikation (Symbol: Nase) von Insulin (160 IU; durchgezogene Linie und schwarze Balken) oder Placebo (gestrichelte Linie und weißer Balken) und gefolgt von der Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost von 900 kcal (Symbol: Tasse). Die postprandialen Konzentrationen werden außerdem als Area under the curve (AUC, rechte Abbildung) dargestellt. Alle Werte repräsentieren Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM). $n = 19$; $p < 0,01$.

In Tabelle 2 findet sich ein Vergleich der peripheren Konzentrationen von Insulin, C-Peptid, Glukose und freien Fettsäuren. Es zeigt sich wie besprochen eine deutliche Verringerung der postprandialen Insulinserumkonzentration nach intranasaler Insulinapplikation verglichen mit der Placebobedingung. Trotz dieser geringeren peripheren Insulinkonzentration zeigen die ermittelten postprandialen Glukosewerte in den beiden Versuchsbedingungen keinen signifikanten Unterschied.

Parameter	Insulin	Placebo
Glukose im Plasma		
Post-Insulin	4,5 ± 0,1 mmol/l	4,7 ± 0,1 mmol/l
Postprandial	1,57 ± 23 mmol/l/min	1,57 ± 20 mmol/l/min
Insulin im Serum		
Post-Insulin	40,1 ± 6,3 pmol/l	22,6 ± 3 pmol/l
Postprandial	45,52 ± 5,05 pmol/l/min	62,32 ± 4,97 pmol/l/min
C-Peptid im Serum		
Post-Insulin	0,34 ± 0,02 nmol/l	0,37 ± 0,03 nmol/l
Postprandial	409 ± 30 nmol/l/min	487 ± 33 nmol/l/min
FFA im Serum		
Post-Insulin	0,25 ± 0,03 mmol/l/min	0,33 ± 0,03 mmol/l/min
Postprandial	53,7 ± 4,6 mmol/l/min	56,6 ± 4,2 mmol/l/min

Tabelle 2. Vergleich der peripheren Konzentrationen von Insulin, C-Peptid, Glukose und freier Fettsäuren. Dargestellt sind die durchschnittlich in den Seren der Studienteilnehmer gemessenen Konzentrationen der jeweiligen Substrate vor der intranasalen Insulin- bzw. Placeboapplikation und die über die Zeit ermittelten Serumkonzentrationen, präsentiert als $AUC_{10,20-1600}$, nach Aufnahme einer hochkalorischen standardisierten Flüssigkost.

Anschließend korrelative Analysen ergaben, dass die sofortigen Effekte des intranasal applizierten Insulins auf die präprandiale Glukose- und Insulinkonzentration, sowie der prandiale Abfall der freien Fettsäuren einerseits statistisch nicht mit der behandlungsinduzierten Erhöhung der postprandialen Thermogenese und der Erniedrigung der postprandialen Konzentrationen des Serum-Insulins andererseits assoziiert waren (Pearson-Korrelationskoeffizient; $p > 0,23$ für alle Vergleiche).

4. Diskussion

In der hier präsentierten Arbeit wurde die Auswirkung einer intranasalen Insulinapplikation von 160 IU auf den postprandialen Energiehaushalt und den Glukosestoffwechsel von gesunden normalgewichtigen Männern mittels indirekter Kalorimetrie und Bestimmung der peripheren Blutkonzentrationen von Insulin, Glukose, C-Peptid und freier Fettsäuren zu verschiedenen Zeitpunkten untersucht.

Die hier präsentierten Studienergebnisse zeigen, dass durch die Erhöhung der intrazerebralen Insulinkonzentration mit Hilfe der intranasalen Gabe des Hormons der Energieumsatz der Probanden gesteigert werden kann. Da diese Energieumsatzerhöhung nach Aufnahme einer standardisierten hochkalorischen Flüssigkost beobachtet werden konnte, ist davon auszugehen, dass sie durch eine Steigerung der postprandialen nahrungsinduzierten Thermogenese verursacht wurde. Des Weiteren ließ sich nach Aufnahme der standardisierten hochkalorischen Flüssigkost durch die vorangegangene intranasale Insulingabe eine Reduktion der postprandialen peripheren Seruminsulinkonzentration im Blut feststellen. Trotz dieser peripheren Verringerung der Hormonkonzentration zeigten sich in den zu diesen Zeitpunkten ermittelten Plasmaglukosekonzentrationen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsbedingungen. Diese Ergebnisse deuten daraufhin, dass durch die Erhöhung der Insulinkonzentration im zerebralen Liquor niedrigere peripher zirkulierende Konzentrationen des Hormons zur Kontrolle des nahrungsabhängigen Anstiegs der Plasmaglukose eines Menschen benötigt werden. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist, dass durch die intrazerebrale Erhöhung des Hormons die Insulinsensibilität an seinen peripheren Rezeptoren verbessert wird und daher geringere periphere Serumkonzentrationen des Insulins zur Verringerung des Blutzuckers durch Aufnahme der Glukose in die Zellen ausreichend sind.

4.1 Beeinflussung der nahrungsinduzierten Thermogenese

Wie in der Einleitung beschrieben konnten Sara und Mitarbeiter bereits vor 30 Jahren zeigen, dass Insulinrezeptoren sich nicht nur peripher, sondern auch im Gehirn von Menschen befinden (Sara et al., 1982). Mit der höchsten Dichte befinden sie sich im Hypothalamus und hier insbesondere im Nucleus arcuatus (Unger et al., 1991). Dieser Teil des Gehirns scheint eine wichtige Funktion in der

zentralnervösen Steuerung der Nahrungsaufnahme und des Energiehaushaltes eines Menschen zu besitzen. Er stellt anscheinend eine wichtige Empfangsstation für verschiedene Signale aus der Körperperipherie, so zum Beispiel auch für die so genannten Fettspeicher-Signale Insulin und Leptin, dar (Seeley und Woods, 2003).

Ein Weg über den diese zentralnervöse Steuerung des Energiehaushaltes zu erfolgen scheint, ist die Beeinflussung der nahrungsinduzierten Thermogenese. Immer wenn Nahrung konsumiert wird, entsteht als Konsequenz der Verarbeitung der aufgenommenen Nährstoffe durch den Körper Wärme. Dieser nahrungsinduzierte Anstieg der Kernkörpertemperatur ist in Untersuchungen messbar und abhängig von der Nährstoffart und der Nahrungsmenge, aber ebenso von der individuellen Effektivität der Verwertung. Eine Abnahme der postprandialen Wärmeproduktion stellt somit ein Defizit in der Thermogenese dar und impliziert eine hohe Effektivität der Nahrungsverwertung. Diese resultiert in großen Speicherreserven, was zur Zunahme des Körpergewichts bei dem betreffenden Individuum führen kann (Rampone und Reynolds, 1991). Erste tierexperimentelle Studien zum Nachweis einer möglichen Beeinflussung der nahrungsinduzierten Thermogenese durch Insulin konnten zeigen, dass eine direkte Injektion des Hormons in das präoptische Areal des Hypothalamus zu einem dosisabhängigen Anstieg der Kernkörpertemperatur führt, welcher durch eine Stimulation der Thermogenese verursacht zu sein scheint. Im Bereich des präoptischen Areals befinden sich temperaturempfindliche Neurone (wärme- bzw. kältesensibel), die Unterschiede in der lokalen, aber auch der Hautoberflächentemperatur registrieren können. Durch eine geringe Zunahme der Temperatur im Hypothalamus, die beispielsweise bei der nahrungsinduzierten Thermogenese entsteht, kommt es zu einer Zunahme der Entladungsrate dieser Neurone. Das zentrale Insulin scheint direkt Einfluss auf die Wärme-sensiblen Neurone zu nehmen und es kommt durch Induktion einer Hyperpolarisation zu einer reduzierten Entladungsrate dieser Neurone. Diese Hemmung der Neurone im Hypothalamus scheint zur Stimulation der Thermogenese des Fettgewebes zu führen. Eine Weitervermittlung dieser Signale in die Peripherie wird über die Raphekerne im Bereich des Hirnstamms vermittelt. Allerdings zeigte sich in der Studie auch, dass nicht die Funktion aller Wärme-sensiblen Neurone durch die Insulinapplikation modifizierbar war, sondern nur ein gewisser Teil reagierte. Diese

Insulin-sensiblen Neurone scheinen aber eine wichtige Funktion für die Regulation des Energiehaushaltes und der thermischen Effekte der Nahrungsaufnahme zu haben und spielen wahrscheinlich auch in der Pathophysiologie der Adipositas eine wichtige Rolle (Sanchez-Alavez et al., 2010). Weitere Hinweise auf eine zentralnervöse Beeinflussung der Thermogenese durch Insulin lieferte eine Studie von Menendez und Atrens bereits 1991. Sie zeigte, dass die Injektion verschiedener Insulindosen in den paraventriculären Hypothalamus von Ratten dosisabhängig zu einem erhöhten Energieverbrauch führt, ein Effekt, den sie mittels indirekter Kalorimetrie nachwies (Menendez und Atrens, 1991).

Ob das Hormon Insulin im Gehirn von Menschen ebenfalls Auswirkungen auf den Energieumsatz in der Thermogenese hat, sollte in der hier präsentierten Arbeit weiter untersucht werden. Dabei war eine Untersuchung mittels Insulinapplikation in den dritten Ventrikel des Gehirns oder eine intravenöse systemische Gabe ausreichend hoher Insulinkonzentrationen aufgrund des ausgeprägten Nebenwirkungspotentials beim Menschen nicht durchführbar (Kern et al., 2000). Eine alternative Untersuchungsmethode ergab sich über den in der Einleitung erläuterten intranasalen Applikationsweg. Im Jahr 2002 konnten Born und Mitarbeiter zeigen, dass es nach intranasaler Insulingabe zu einem signifikanten Maximum des Hormons in der Hirnflüssigkeit nach ca. 30-40 Minuten kommt. Diese intrazerebrale Insulinanreicherung zeigte sich dabei vollständig unabhängig von den peripheren Seruminsulinkonzentrationen (Born et al., 2002).

In den hier präsentierten Ergebnissen lässt sich direkt nach der intranasalen Applikation von insgesamt 160 IU Insulin keine Änderung des Energieumsatzes, gemessen mittels indirekter Kalorimetrie, bei den neunzehn untersuchten männlichen Probanden feststellen. Nach Aufnahme der standardisierten hochkalorischen Flüssigkost ergab sich dann aber ein um durchschnittlich ca. 17 % höherer Energieverbrauch der Probanden in Ruhe nach intranasaler Insulingabe verglichen mit der Placeboapplikation. Diese Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass das Hormon Insulin auch beim Menschen zu einer zentralnervös vermittelten Stimulation der postprandialen nahrungsinduzierten Thermogenese führt, die über eine Beeinflussung der Wärme-sensiblen Neurone des Hypothalamus vermittelt werden könnte. Diese Stimulation führt zu einer Erhöhung der Wärmeproduktion bei der Nahrungsverwertung und vermindert die Bildung von Speicherreserven, zum

Beispiel im Fettgewebe. Die Regulation der Thermogenese besitzt daher einen wichtigen Anteil an der Regulation des Energiehaushaltes. Mittels der Speicherung von Triglyzeriden im weißen Fettgewebe können Zeiten mit vermindertem Nahrungsangebot überstanden werden. Heutzutage ist die dauerhaft erhöhte Fettspeicherung im Sinne einer Adipositas bei einem Großteil der westlichen Bevölkerung für die zunehmende Inzidenz von assoziierten Erkrankungen wie Typ 2 Diabetes mellitus und Arteriosklerose verantwortlich. Der hier gemessene erhöhte postprandiale Energieverbrauch der Probanden, verursacht durch die erhöhte Insulinsignalwirkung im Gehirn, könnte, zusammen mit der in vorherigen Studien nachgewiesenen reduzierten Nahrungsaufnahme nach intranasaler Applikation des Hormons (Benedict et al., 2008), ursächlich für die bekannte katabole Wirkung des zentralen Insulins sein.

Einen weiteren zentralen katabol wirkenden Mechanismus des Insulins, der Einfluss auf den Energiehaushalt haben könnte, beschrieb eine deutsche Arbeitsgruppe um Hennige 2009. Sie zeigten, dass eine intraventrikuläre Insulinapplikation bei norm- und übergewichtigen Mäusen unterschiedliche Auswirkungen auf die kortikale Aktivität und die körperliche Aktivität hatte. Die Insulinapplikation führte bei den normalgewichtigen Tieren zu einer erhöhten kortikalen Aktivität, gemessenen mittels ECoG, während bei den Mäusen mit erhöhtem Körpergewicht keine Veränderung der abgeleiteten Potentiale gesehen werden konnte. Genauso verhielt es sich in Bezug auf die beobachtete körperliche Aktivität. Während die übergewichtigen Tiere physikalisch inaktiv waren, reagierten die schlanken Mäuse nach der zerebralen Insulinerhöhung mit gesteigerter körperlicher Aktivität. Diese wurde durch eine Aktivierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase-Aktivität und eine darauf folgende Schließung von so genannten Kv1.3.-Kaliumkanälen vermittelt (Hennige et al., 2009). Auch eine vorhergehende Studie konnte zeigen, dass bei Mäusen mit verringerter Insulinwirkung im Hypothalamus die körperliche Aktivität gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe vermindert war (Taguchi et al., 2007).

Trotz der hier präsentierten signifikanten Ergebnisse zur Beeinflussung des Energiehaushaltes durch Insulin werden weitere Studien zur Identifizierung der zentralnervösen Wirkung des Hormons nötig sein, um ein noch genaueres Verständnis dieser zentralen Energieregulation des Menschen zu erlangen. In folgenden zukünftigen Studien sollte dabei besonderer Wert auf die Messung der

Kernkörpertemperatur, der Aktivität des braunen Fettgewebes und der Bestimmung relevanter Vitalparameter, wie zum Beispiel Herzfrequenz und Blutdruck, gelegt werden, um die genauen zentralnervösen Regulationsmechanismen des Energiehaushaltes besser zu verstehen.

4.2 Beeinflussung des Blutzuckers

Bezüglich der Auswertung der Insulinserumkonzentrationen zeigte sich direkt nach intranasaler Applikation von 160 IU des Hormons, beginnend um 9.10 Uhr des jeweiligen Versuchstages, und vor Aufnahme der hochkalorischen Kost ein kurzzeitiger geringer Anstieg der Insulinwerte im Serum der Studienteilnehmer. Parallel dazu ließ sich eine geringe Abnahme der Plasmaglukosekonzentrationen ermitteln, welche jedoch stets innerhalb euglykämischer Werte blieb. Diese beobachtete Erhöhung des peripheren Insulins im Serum wurde bereits in anderen vorhergehenden Studien, in denen ebenfalls Insulin intranasal appliziert wurde, beschrieben (Benedict et al., 2008 und Krug et al., 2010). Da die Dosierung des intranasalen Insulins mit 160 IU, verglichen mit den verwendeten Dosierungen dieser vorangegangenen Studien, in der hier präsentierten Arbeit höher war, könnte der gesehene kurzzeitige Anstieg des Seruminsulins durch einen Übertritt des intranasal applizierten Hormons über die Mukosa der Nasenschleimhaut in die periphere Zirkulation bedingt sein. Da die unmittelbar nach intranasaler Applikation gesehene Erhöhung der Insulinserumkonzentration nur sehr kurzzeitig und die hieraus resultierenden Effekte auf den Blutzuckerspiegel der Probanden nur sehr gering ausgeprägt waren, ist davon auszugehen, dass eine relevante Beeinflussung der in der Studie nachgewiesenen Steigerung der postprandialen Thermogenese und des postprandialen Glukosestoffwechsel auszuschließen ist. Dieser Schluss wird zusätzlich unterstützt durch die Tatsache, dass statistisch keine signifikante Beziehung zwischen dieser akuten, unmittelbar nach Applikation aufgetretenen peripheren Insulinerhöhung, und den beobachteten postprandialen Effekten des Insulins besteht.

Ein bemerkenswertes Ergebnis bezüglich der ermittelten Blutparameter in der dargestellten Arbeit ist die durch das intranasale Insulin verursachte Reduktion des postprandialen Seruminsulinspiegels gegenüber der Placebobedingung. Trotz dieser Reduktion des peripheren Insulins war der durch die Nahrungsaufnahme

der hochkalorischen Flüssigkost induzierte Anstieg der plasmatischen Glukosekonzentration in beiden Bedingungen gleich ausgeprägt. Ein signifikanter Unterschied ließ sich nicht feststellen. Eine mögliche Erklärung für diese Ergebnisse könnte eine durch die intranasale Substitution von 160 IU Insulin verursachte Beeinflussung der Sensibilität peripherer Rezeptoren gegenüber dem Hormon sein. Durch die intrazerebrale Erhöhung des Insulins scheinen geringere periphere Insulinmengen zur Regulation des Blutzuckerhaushaltes benötigt zu werden.

Dass Insulin verschiedene regulatorische zentralnervöse Effekte auf den Glukosestoffwechsel durch die Beeinflussung hypothalamischer Insulinrezeptoren ausübt, wurde in mehreren tierexperimentellen Studien nachgewiesen. Bereits 2002 konnte die Forschergruppe um Obici durch Infusion von Insulin in den dritten Ventrikel von Rattengehirnen zeigen, dass dieses Hormon eine wichtige Funktion in der Kontrolle der hepatischen Glukoseproduktion auf zentraler Ebene ausübt (Obici et al., 2002b). Weiterführend zeigte die gleiche Forschergruppe, dass eine selektive Abnahme zentraler Insulinrezeptoren im Hypothalamus von Ratten zu einer verringerten hepatischen Insulinsensibilität führte, woraus eine signifikante Erhöhung der hepatischen Glukoseproduktion resultierte. Dieser Effekt trat auf, obwohl die peripheren Insulinkonzentrationen sich nicht von denen gesunder Kontrolltiere unterschieden (Obici et al., 2002a). Spanswick und seine Mitarbeiter konnten nachweisen, dass Insulin über eine Öffnung von ATP-sensiblen Kaliumkanälen zu einer Hyperpolarisierung Glukose-abhängiger hypothalamischer Neurone bei normalgewichtigen Ratten, nicht jedoch bei adipösen Ratten, führt (Spanswick et al., 2000). Diese durch Hyperpolarisierung entstandenen zentralen Signale werden anscheinend über vagale Efferenzen fortgeleitet und führen zu einer Verminderung der hepatischen Glukosebereitstellung durch Glukoneogenese oder Glykogenolyse (Obici et al., 2002a und Pocai et al., 2005).

Einen Hinweis auf die Regulation des Glukosehaushaltes durch zentrales Insulin beim Menschen erbrachte erst kürzlich der Forschergruppe um Kishore, welche zeigen konnte, dass durch die orale Gabe des zentral wirksamen Kaliumkanalagonisten Diazoxid die periphere Glukosekonzentration im Serum um durchschnittlich 30 % verringert werden konnte. Damit keine Verzerrung durch die Wirkung von peripherem Insulin auf die Glukosekonzentration auftreten konnte, wurde die pankreatische Insulinbereitstellung durch Somatostatin unterdrückt.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass auch beim Menschen durch eine zentrale Aktivierung der Kaliumkanäle eine Inhibierung der Glukosesynthese in der Leber möglich ist und dass diese Unterdrückung unabhängig von der peripheren Insulinfreisetzung des Pankreas funktioniert (Kishore et al., 2011). Eine entsprechende Wirkung der zentralnervösen Insulingabe im vorliegenden Experiment ist gut vorstellbar. Allerdings ist die Glukosesynthese in der Leber beim Menschen für rund 20-50% des Nüchternglukosewertes im Serum zuständig (Roden und Bernroider, 2003), so dass ein Effekt des intranasalen Insulins auf die Glukoseproduktion zusätzlich von einer verbesserten insulinabhängigen Verwertung der mit der Nahrung aufgenommenen Glukose unterstützt worden sein könnte.

Die Abnahme der postprandialen Seruminsulin-Konzentrationen könnte darüber hinaus von den verminderten postprandialen Serumwerten der freien Fettsäuren profitiert haben. Es ist bekannt, dass freie Fettsäuren die insulinabhängige Aufnahme der Glukose in Muskelzellen beeinträchtigen. Die hier nachgewiesene Verminderung der freien Fettsäuren im Serum nach intranasaler Insulingabe könnte also im Sinne eines abgeschwächten inhibierenden FFA-Effekts zu einer verbesserten postprandialen Glukoseaufnahme beigetragen haben (Roden et al., 1996). Dieser Annahme widerspricht allerdings das Ergebnis einer Studie von Boden, in der dieser zeigen konnte, dass der Einfluss der freien Fettsäuren auf die insulinabhängige Glukoseaufnahme der Muskelzellen ein sehr langsamer Effekt ist und sich über Stunden entwickelt (Boden, 1997). Darüber hinaus lässt das Fehlen einer signifikanten statistischen Korrelation zwischen dem Abfall der prandialen freien Fettsäuren und der postprandial verringerten Insulinkonzentration die Beeinflussung des Ergebnisses durch den Abfall der freien Fettsäuren als unwahrscheinlich erscheinen. Schlussendlich ist auch eine erhöhte nicht-insulinabhängige Glukoseaufnahme, wie sie beispielsweise im Gehirn oder den Erythrozyten stattfindet, als Ursache der verminderten postprandialen Seruminsulinwerte trotz vergleichbarer Serumglukosewerte zwischen den beiden Versuchsbedingungen nicht eindeutig auszuschließen.

In vorausgegangenen tierexperimentellen Studien zeigte sich, dass die spezifische Wirkung der hypothalamischen Insulinsignale auf den peripheren Glukosehaushalt und den Energieverbrauch abhängig zu sein scheint von den beeinflussten Neuronen. Lin und Mitarbeiter bewiesen 2010, dass das gezielte

Ausschalten von Insulinrezeptoren in AgRP-Neuronen zu einer Reduktion der hepatischen Glukoseproduktion führt, während das Blockieren von Rezeptoren in POMC-Neuronen eher zu einer gesteigerten hepatischen Glukosebereitstellung führte (Lin et al., 2010). Wiederum konnte die Forschergruppe um Obici zeigen, dass es durch eine Reduktion der Insulinrezeptoren im Nucleus arcuatus um 50% zu einem signifikanten Sensitivitätsverlust der Leber gegenüber Insulin kommt (Obici et al., 2002b). Hierbei konnte diese Resistenz aber vorrangig durch einen Rezeptormangel an AgRP-Neuronen, nicht aber an POMC-Neuronen, ausgelöst werden (Könner et al., 2007). Durch eine generelle Erhöhung der intrazerebralen Insulinkonzentration via intranasaler Insulingabe, wie in den hier gezeigten Ergebnissen, ist eine solche Unterscheidung bezüglich der Neurone und der intraneuronalen Signalwege nicht möglich. Es werden weitere Studien nötig sein, um diese spezifischen Unterschiede zwischen hypothalamischen Neuronen hinsichtlich ihrer hepatischen Kontrollfunktion weiter zu untersuchen. In diesen Studien wäre dabei besonders von Interesse, ob durch das zentrale Insulin tatsächlich eine positive Beeinflussung der Sensibilität peripherer Hormonrezeptoren erfolgt.

4.3 Ausblick

Zusammenfassend zeigen die hier präsentierten Ergebnisse, dass das Hormon Insulin bei gesunden männlichen Probanden mittels seiner zentralnervösen Funktion zu einer Steigerung der postprandialen Thermogenese führt und die Effektivität der peripheren Glukoseregulation nach Nahrungsaufnahme verbessern kann. Eine Erhöhung des Insulins im Gehirn scheint also die Fähigkeit des menschlichen Körpers der Beherrschung der täglich anfallenden Kalorien zu verbessern (Woods, 1991; Schwartz und Porte, 2005).

Diese Tatsache erlangt insbesondere Relevanz, da das Krankheitsbild des Typ 2 Diabetes mellitus durch eine Abnahme der peripheren Insulinsensibilität verursacht wird. Diese steht im Zusammenhang sowohl mit der gesamten Körperfettmasse, als auch dem Körperfettverteilungsmuster eines Menschen. Dabei kommt insbesondere dem viszeralen Fettgewebe eine Schlüsselrolle in der Entstehung der peripheren Insulinresistenz zu. Die weltweit drastisch steigende Inzidenz des Typ 2 Diabetes mellitus wird hauptsächlich mit der zunehmenden Häufigkeit schwerer Adipositas erklärt (Rother und Brüning, 2007). Dass auch die

zentralnervöse Funktion des Insulins eine entscheidende regulierende Funktion auf den Kreislauf aus Übergewicht und peripherer Insulinresistenz darstellt, konnte durch Kern und seine Mitarbeiter 2003 gezeigt werden, die nachwiesen, dass bei Übergewichtigen der Transport des Insulins über die Blut-Hirn-Schranke gestört ist (Kern et al., 2003). Darüber hinaus scheint aber nicht nur die verminderte zentrale Insulinkonzentration, sondern auch eine eingeschränkte zentralnervöse Wirkung bei übergewichtigen Individuen vorzuliegen. So führte die Ausschaltung neuronenspezifischer Insulin-Rezeptoren bei Mäusen zu einem adipösen Phänotyp und einer erhöhten Plasma-Insulin-Konzentration mit gleichzeitiger Störung der Blutfette (Brüning et al., 2000).

Es besteht bei Adipositas nicht nur das Problem der sich entwickelnden peripheren, sondern möglicherweise auch einer zentralen hypothalamischen Insulinresistenz. Hieraus könnte sich ein möglicher therapeutischer Ansatz über die intranasale Insulinapplikation mit Erhöhung der zentralen Insulinkonzentration zur Behandlung der metabolischen Erkrankungen ergeben. Die Forschergruppe um Hallschmid konnte 2004 beweisen, dass eine intranasale Insulingabe von 4 x 40 IU/Tag über einen Zeitraum von acht Wochen zu einer Reduktion des Körperfettgehalts bei männlichen Probanden führt (Hallschmid et al., 2004). Allerdings konnte von der gleichen Arbeitsgruppe bereits gezeigt werden, dass die alleinige Erhöhung der Insulinkonzentration im Liquor bei übergewichtigen Männern keinen Einfluss auf den Körperfettgehalt hat (Hallschmid et al., 2008). Diese Ergebnisse unterstützen die Vermutung, dass eine zentrale Insulinresistenz mitursächlich für die Entstehung von Adipositas und Typ 2 Diabetes mellitus sein könnte. Weiterführende Studien werden nötig sein, um diese Resistenzmechanismen zu verstehen und aus diesen Erkenntnissen mögliche therapeutische Ansätze zur Prävention und Behandlung dieser Erkrankungen zu entwickeln.

5. Zusammenfassung

Metabolische Erkrankungen sind in zunehmendem Maße ein großes weltweites Gesundheitsproblem. Um ihrer steigenden Prävalenz entgegen wirken zu können wird es immer wichtiger die Regulation des Energiehaushaltes des Menschen zu verstehen. In tierexperimentellen Studien konnte dem Insulin eine entscheidende Rolle in der zentralnervösen Regulation des Energiehaushaltes zugewiesen werden. Ziel dieser Arbeit war es daher, die zentralnervösen Effekte von Insulin auf den postprandialen Energieumsatz und den Glukosestoffwechsel des Menschen zu untersuchen.

In einer doppelblinden, placebo-kontrollierten, randomisierten Studie wurden an zwei Versuchstagen 19 männliche, normalgewichtige Männer (18-26 Jahre) untersucht, denen 160 IU Insulin intranasal appliziert wurden. Die Effekte auf den Energieumsatz wurden mittels indirekter Kalorimetrie und durch die Bestimmung der peripheren Blutkonzentrationen von Insulin, Glukose, C-Peptid und freien Fettsäuren vor und nach Insulingabe, sowie vor und nach Aufnahme einer hochkalorischen Trinkkost (900 kcal) untersucht.

Es zeigte sich, dass der postprandiale Energieverbrauch der Probanden nach Insulingabe signifikant höher war als nach der Placeboapplikation. Des Weiteren ergaben sich nach Applikation des Hormons postprandial erniedrigte Konzentrationen von Insulin und C-Peptid, wobei gleichzeitig die peripheren Glukosekonzentrationen in beiden Bedingungen (Insulin vs. Placebo) nach Nahrungsaufnahme vergleichbar waren. Zusätzlich führte das Insulin zu einem kurzzeitigen Abfall der postprandialen Serumkonzentration der freien Fettsäuren. Diese Ergebnisse deuten an, dass durch eine Erhöhung der zentralnervösen Insulinkonzentration die postprandiale Thermogenese stimuliert und so der Energieumsatz gesteigert werden kann. Außerdem scheinen nach intranasaler Applikation niedrigere periphere Insulinkonzentrationen zur Kontrolle des Glukosehaushaltes benötigt zu werden, was eine Verbesserung der postprandialen peripheren Insulinsensitivität anzeigen könnte. Aus diesen Resultaten lässt sich die Relevanz des Hormons Insulin für die zentralnervöse Regulation des Energiehaushaltes beim Menschen erschließen, aber es werden weitere Studien nötig sein, um hieraus mögliche therapeutische Ansätze zur Prävention und Behandlung metabolischer Erkrankungen entwickeln zu können.

6. Literaturverzeichnis

Al-Qassab, H., Smith, M., Irvine, E., Guillermet-Guibert, J., Claret, M., Choudhury, A., Selman, C., Piipari, K., Clements, M., Lingard, S.: Dominant role of the p110beta isoform of PI3K over p110alpha in energy homeostasis regulation by POMC and AgRP neurons. *Cell Metab.* 10: 343-354, 2009

Adamo, M., Raizada, M., LeRoith, D.: Insulin and Insulin-like growth factor receptors in the nervous system. *Mol Neurobiol.* 3 (1-2): 71-100, 1989

Araki, E., Lipes, M., Patti, M., Brüning, J., Haag, B., Johnson, R., Kahn, C.: Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 372: 186-190, 1994

Balthasar, N., Coppari, R., McMinn, J., Liu, S., Lee, C., Tang, V., Kenny, C.D., McGovern, R.A., Chua, S.C. Jr, Elmquist, J.K., Lowell, B.B.: Leptin receptor signaling in POMC neurons is required for normal body weight homeostasis. *Neuron* 42: 982-991, 2004

Benedict, C., Hallschmid, M., Hatke, A., Schultes, B., Ratter, F., Fehm, H., Born, J., Kern, W.: Intranasal insulin improves memory in humans. *Psychoneuroendocrinology* 29 (10): 1326-1334, 2004

Benedict, C., Kern, W., Schultes, B., Born, J., Hallschmid, M.: Differential sensitivity of men and women to anorexigenic and memory-improving effects of intranasal insulin. *J Clin Endocrinol Metab* 93:1339-1344, 2008

Benoit, S., Schwartz, M., Lachey, J., Hagan, M., Rushing, P., Blake, K.: A novel selective melanocortin-4-receptor agonist reduces food intake in rats and mice without producing aversive consequences. *J Neurosci* 20: 3442-3448, 2000

Benoit, S., Air, E., Coolen, L., Strauss, R., Jackman, A., Clegg, D. : The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *J Neurosci* 22: 9048-9052, 2002

Boden, G.: Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes* 46 : 3-10, 1997

Born, J., Lange, T., Kern, W., McGregor, G., Bickel, U., Fehm, H.: Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain. *Nat Neurosci* 5: 514-516, 2002

Brüning, J., Gautam, D., Burks, D., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P., Klein, R., Krone, W., Müller-Wieland, D., Kahn, C.: Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 289: 2122-2125, 2000

Caro, J., Kolaczynski, J., Nyce, M.: Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 348: 159-161, 1996

Cheung, C., Clifton, D., Steiner, R.: Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* 138: 4489-4492, 1997

Considine, R., Sinha, M., Heiman, M., Kriauciunas, A., Stephens, T., Nyce, M.: Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334: 292-295, 1996

Craft, S., Peking, E., Schwartz, M., Schellenberg, G., Rasking, M., Porte, D. Jr.: Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer`s disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. *Neurology* 50: 164-168, 1998

Cummings, J., Cole, G.: Alzheimer disease. *JAMA* 287(18): 2335-2338, 2002

De Jonge, L., Bray, G. : The thermic effect of food and obesity : a critical review. *Obes Res* 5: 622-631, 1997

Gasparini, L., Netzer, W., Greengard, P., Xu, H.: Does insulin dysfunction play a role in Alzheimer`s disease? *Trends Pharmacol Sci* 23: 288-293, 2002

Gerozissis, K. : Brain insulin : regulation, mechanisms of action and functions. *Cell Mol Neurobiol* 23: 1-25, 2003

Gribble, F. : A higher power for insulin. *Nature* 434: 965-966, 2005

Gropp, E., Gropp, E., Shanabrough, M., Borok, E., Xu, A., Janoschek, R., Buch, T., Plum, L., Balthasar, N., Hampel, B., Waisman, A., Barsh, G., Horvath, T., Brüning, J.: Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. *Nat. Neurosci.* 8: 1289-1291, 2005

Hallschmid, M., Benedict, C., Schultes, B., Fehm, H., Born, J., Kern, W.: Intranasal insulin reduces body fat in men but not in women. *Diabetes* 53: 3024-3029, 2004

Hallschmid, M., Benedict, C., Schultes, B., Born, J., Kern, W.: Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signalling. *Int J Obes (Lond)* 32: 275-282, 2008

Hallschmid, M., Schultes, B.: Central nervous insulin resistance: a promising target in the treatment of metabolic and cognitive disorders? *Diabetologia* 52: 2264-2269, 2009

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

Hennige, A., Sartorius, T., Lutz, S., Tschritter, O., Preissl, H., Hopp, S., Fritsche, A., Rammensee, H., Ruth, P., Häring, H.: Insulin-mediated cortical activity in the slow frequency range is diminished in obese mice and promotes physical inactivity. *Diabetologia* 52 : 2416-2424, 2009

Hill, J.: Gene expression and the Control of Food Intake by Hypothalamic POMC/CART Neurons. *Open Neuroendocrinol. J.* 3: 21-27, 2010

Hoyer, S.: Is sporadic Alzheimer disease the brain type of non-insulin dependent diabetes mellitus? A challenging hypothesis. *J Neural Transm* 105: 415-422, 1998

Huszar, D., Lynch, C., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J., Fang, Q. Berkemeier, L.: Targeted disruption of the melanocortin-4-receptor results in obesity in mice. *Cell* 88: 131-141, 1997

Illum, L.: Transport of drugs from the nasal cavity to the central nervous system. *J. Pharm. Sciences* 11: 1-18, 2000

Ishihara, H., Maechler, P., Gjinovci, A., Herrera, P., Wollheim, C.: Islet beta-cell secretion determines glucagons release from neighbouring alpha-cells. *Nat. Cell Biol.* 5: 330-335, 2003

Kaiyala, K., Prigeon, R., Kahn, S., Woods, S., Schwartz, M.: Obesity induced by a high-fat diet is associated with reduced brain insulin transport in dogs. *Diabetes* 49: 1525-1533, 2000

Kern, W., Fittje, A., Fohr, W., Kerner W., Born, J., Fehm, H.: Increase in systolic blood pressure and catecholamine level during hyperinsulinemia in a placebo-controlled euglycemic clamp in healthy subjects. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 108: 498-505, 2000

Kern, W., Peters, A., Freuhwald-Schultes, B., Deiniger, E., Born, J., Fehm, H.: Improving influence of insulin on cognitive functions in humans. *Neuroendocrinology* 74 (4): 270-280, 2001

Kern, W., Hallschmid, M., Born, J., Fehm, H.: Reduced transport of insulin across the blood/brain barrier in obese humans. *Diabetes* 52: 559, 2003

Kern, W., Benedict, C., Schultes, B., Plöhr, F., Moser, A., Born, J., Fehm, H., Hallschmid, M.: Low cerebrospinal fluid insulin levels in obese humans. *Diabetologia* 49: 2790-2792, 2006

Kishore, P., Boucai, L., Zhang, K., Li, W., Koppaka, S., Kehlenbrink, S., Schiwiek, A., Esterson, Y., Mehta, D., Bursheh, S., Su, Y., Gutierrez-Juarez, J., Muzumdar, R., Schwartz, G., Hawkins, M.: Activation of KATP channels suppresses glucose production in humans. *The Journal of Clinical Investigation* 1;121(12): 4916-20, 2011

Könner, A., Janoschek, R., Plum, L., Jordan, S., Rother E., Ma X., Xu C., Enriori P., Hampel B., Barsh G., Kahn C., Cowley M., Ashcroft F., Brüning, J.: Insulin action in AgRP-expressing neurons is required for suppression of hepatic glucose production. *Cell Metab.* 5: 438-449, 2007

Kreymann, G., Adolph, M., Müller, M.: Energy expenditure and energy intake - Guidelines on Parenteral Nutrition Chapter 3. *Ger Med Sci.* 18: 7, 2009

Kristensson, K., Olsson, Y.: Uptake of exogenous proteins in mouse olfactory cells. *Acta Neuropathol* 19: 145-154, 1971

Krompecher, I.: Development of the connective tissue and its capacity of transformation. *Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.* 4: 113-117, 1954

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*: E468-72, 2010

Lin, H., Plum, L., Ono, H., Gutierrez-Juarez, R., Shanabrough, M., Borok, E., Horvath, T.L., 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

Löffler, G., Kellerer, M., Häring, H.: Insulin. In: Löffler, G. und Petrides, P.: Biochemie und Pathobiochemie. 7. Aufl., 395-430, Springer-Verlag, Heidelberg, 2003a

Löffler, G.: Stoffwechsel von Glucose und Glycogen. In: Löffler, G. und Petrides, P.: Biochemie und Pathobiochemie. 7. Aufl., 395-430, Springer-Verlag, Heidelberg, 2003b

Lu, D., Willard, D., Patel, I., Kadwell, S. Overton, L., Kost, T.: Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 371: 799-802, 1994

Luquet, S., Perez, F.A., Hnasko, T.S., Palmiter, R.D.: NPY/AgRP neurons are essential for feeding in adult mice but can be ablated in neonates. *Science* 310: 683-685, 2005

Menendez, J., Atrens, D. : Insulin and the paraventricular hypothalamus: modulation of energy balance. *Brain research* 555: 193-201, 1991

Miyake, K., Ogawa, W., Matsumoto, M., Nakamura, T., Sakaue, H., Kasuga, M.: Hyperinsulinemia, glucose intolerance, and dyslipidemia induced by acute inhibition of phosphoinositide 3-kinase signalling in the liver. *J Clin Invest* 110: 1483-1491, 2002

Mizuno, T., Kleopoulus, S., Bergen, H., Roberts, J., Priest, C., Mobbs, C.: Hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA is reduced by fasting and (corrected) in ob/ob and db/db mice, but is stimulated by leptin. *Diabetes* 47: 294-297, 1998

Niswender, K., Morton, G., Stearns, W., Rhodes, C., Myers, M., Schwartz, M.: Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature* 413: 794-795, 2001

Obici, S., Zhang, B., Karkanias, G., Rossetti, L.: Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat Med* 8: 1376-1382, 2002a

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

Park, C., Seeley, R., Craft, S., Woods, S.: Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. *Physiol Behav.* 68: 509-514, 2000

Pocai, A., Lam, T.K., Gutierrez-Juarez, R., Obici, S., Schwartz, G., Bryan, J., Guilar-Bryan, L., Rossetti, L.: Hypothalamic K(ATP) channels control hepatic glucose production. *Nature* 434: 1026-1031, 2005

Prager, R., Wallace, P., Olefsky, J.: Direct and indirect effects of insulin to inhibit hepatic glucose output in obese subjects. *Diabetes* 36: 607-611, 1987

Rampone, A., Reynolds, P.: Food Intake Regulation by Diet-Induced Thermogenesis. *Medical Hypothesis* 34: 7-12, 1991

Reed, G., Hill, J.: Measuring the thermic effect of food. *Am J clin Nutr* 63: 164-169, 1996

Roden, M., Price, T., Perseghin, G., Petersen, K., Rothman, D., Cline, G., Shulman, G.: Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J Clin Invest* 97(12):2859-65, 1996

Roden, M., Bernroider, E.: Hepatic glucose metabolism in humans-its role in health and disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 17(3): 365-83, 2003

Rother, E., Brüning, J.: Grundlagen der zentralen Körpergewichtsregulation. *Der Gynäkologe* 8: 592- 598, 2007

Sakane, T., Akizuki, M., Yamashita, S., Nadai, T., Hashida, M., Sezaki, H.: The transport of drug to the cerebrospinal fluid directly from the nasal cavity: the relation to the lipophilicity of the drug. *Chem. Pharm. Bull* 39: 2456-2458, 1991

Sakane, T., Akizuki, M., Yamashita, S., Nadai, T., Hashida, M., Sezaki, H.: Direct drug transport from the rat nasal cavity to the cerebrospinal fluid: the relation to the molecular weight of drug. *J.Pharm. Pharmacol.* 47: 379-381, 1995

Sanchez-Alavez, M., Tabarean, I., Osborn, O., Mitsukawa, K., Schaefer, J., Dubins, J., Holmberg, K., Klein, I., Klaus, J., Gomez, L., Kolb, H., Secret, J., Jochems, J., Myashiro, K., Buckley, P., Hadcock, J., Eberwine, J., Conti, B., Bartfai, T.: Insulin causes hyperthermia by direct inhibition of warm-sensitive neurons. *Diabetes* 59: 43-50, 2010

Sánchez-Lasheras, C., Köhner, C., Brüning, J. : Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Frontiers in Neuroendocrinology* 31: 4–15, 2010

Sara, V., Hall, K., Von, H., Humbel, R., Sjogren, B., Wetterberg, L.: Evidence for the presence of specific receptors for insulin-like growth. *Neurosci.Lett.* 34: 39-44, 1982

Schulingkamp, R., Pagano, T., Hung, D., Raffa, R.: Insulin receptors and insulin action in the brain; review and clinical implications. *Neurosci Biobehav Rev.* 24 (8): 855-72, 2000

Schwartz, M., Figlewicz, D., Kahn, S., Baskin, D., Greenwood, M., Porte, D. Jr.: Insulin binding to brain capillaries is reduced in genetically obese, hyperinsulinemic Zucker rats. *Peptides* 11: 467-472, 1990

Schwartz, M. und Porte, D.: Diabetes, obesity, and the brain. *Science* 307(5708):375-9, 2005

Seeley, R., Yagaloff, K., Fisher, S., Burn, P., Thiele, T., Van Dijk, G.: Melanocortin receptors in leptin effects. *Nature* 390: 349, 1997

Seeley, R., Woods, S.: Monitoring of stored and available fuel by the CNS: implications for obesity. *Nat Rev, Neurosci* 4: 901-909, 2003

Sindelar, D., Balcom, J., Chu, C., Neal, D., Cherrington, A.: A comparison of the effects of selective increases in peripheral or portal insulin on hepatic glucose production in the conscious dogs. *Diabetes* 45: 1594-1604, 1996

Sindelar, D.: The role of fatty acids in mediating the effects of peripheral insulin on hepatic glucose production in the conscious dog. *Diabetes* 46: 187-196, 1997

Sipols, A., Baskin, D., Schwartz, M.: Effect of intracerebroventricular insulin infusion on diabetic hyperphagia and hypothalamic neuropeptide gene expression. *Diabetes* 44: 147-151, 1995

Spanswick, D., Smith, M., Mirshamsi, S., Routh, V., Ashford, M.: Insulin activates ATP-sensitive K⁺ channels in hypothalamic neurons of lean, but not obese rats. *Nat Neurosci* Aug;3(8): 757-8, 2000

Taguchi, A., Wartschow, L., White, M.: Brain IRS2 signaling coordinates life span and nutrient homeostasis. *Science* 317: 369-372, 2007

Tong, Q., Ye, C., Jones, J.: Synaptic release of GABA by AgRP neurons is required for normal regulation of energy balance. *Nat. Neurosci.* 11: 998-1000, 2008

Torsoni, M., Carvalheim, J., Pereira-Da-Silva, M., de Carvalho-Filho, M., Saad, M., Velloso, L.: Molecular and functional resistance to insulin in hypothalamus of rats exposed to cold. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E216-E223, 2003

Unger, J., Livingston, J., Moss, A.: Insulin receptors in the central nervous system: localization, signalling mechanism and functional aspects. *Prog Neurobiol* 36: 343-362, 1991

Wallum, B., Tabaorsky, G., Porte, D. : Cerebrospinal fluid insulin levels increase during intravenous insulin infusions in man. *J Clin Endocrinol Metab* 64: 190-194, 1987

Westerp, K.: Diet induced thermogenesis. *Nutrition and Metabolism:* 1-5, 2004

Williams, K., Margatho, L., Lee, C., Choi, M., Lee, S., Scott, M., Elias, C., Elmquist, J.: Marked segregation of acute leptin and insulin effects in distinct populations of arcuate proopiomelanocortin neurons. *J.Neurosci* 30: 2472-2479, 2010

Wozniak, M., Rydzewski, B., Baker, S., Raizada, M.: The cellular and physiological actions of insulin in the central nervous system. *Neurochem. Int.* 22: 1-10, 1993

Woods, S. :The eating paradox: how we tolerate food. *Psychol Rev* 98(4): 48505, 1991

Woods, S., Schwartz, M., Baskin, D., Seeley, R.: Food Intake and the Regulation of Body Weight. *Psychol Rev.:* 255-277, 2000

Woods, S., Seeley, R., Baskin, D., Schwartz, M.: Insulin and the blood-brain barrier. *Curr Pharm Res* 9: 795-800, 2003

Zahniser, N., Goens, M., Hanaway, P., Vinych, J.: Characterization and regulation of insulin receptors in rat brain. *J Neurochem.* 42: 1354-1362, 1984

www.data-input.de; Data Input GmbH: *Das B.I.A.-Kompendium.* 2. Auflage, 2003; Tag des Zugriffs 19.06.2012

www.megru.uzh.ch/j3/module/endokrinologie/endo.php?unild=E71110&di=10, Tag des Zugriffs 05.12.2011

7. Anhang

Verzeichnis der Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

		<u>Seite</u>
Abbildung	1. Die Struktur des Insulins	9
Abbildung	2. Regulation des Energiehaushaltes durch die POMC- und AgRP-Neurone mittels Melanocortinsystem	13
Abbildung	3. Schematisches Modell der zentralnervösen Insulinwirkungen	18
Abbildung	4. Versuchsablauf	27
Abbildung	5. Intranasal appliziertes Insulin erhöht den postprandialen Energieverbrauch, Zeitverlauf	33
Abbildung	6. Intranasal appliziertes Insulin erhöht den postprandialen Energieverbrauch, Fläche unter der Kurve	34
Abbildung	7. Die Konzentration der plasmatischen Glukose	35
Abbildung	8. Die Konzentration des Seruminsulins	36
Abbildung	9. Die Konzentration des C-Peptids	37
Abbildung	10. Die Konzentration der freien Fettsäuren	38

Tabellen

Tabelle	1. Brennwerte und kalorisches Äquivalent der Makronährstoffe	30
Tabelle	2. Vergleich der peripheren Konzentrationen von Insulin, C-Peptid, Glukose und freien Fettsäuren nach intranasaler Insulin- oder Placeboapplikation	39

Versuchsprotokoll

17:00 Uhr am Vortag des experimentellen Tages

Vom Vortag bis zum Beginn des Experiments müssen die Probanden folgende Bedingungen einhalten:

- **Ab 16:00 Uhr keinen Sport ausüben.**
- **Ab 16:00 keinen Alkohol und keine koffeinhaltigen Getränke trinken.**
- **ab 20:00 Uhr nichts mehr essen.**
- **nachts ist nur noch das Trinken von Wasser erlaubt.**
- **spätestens um 23:00 Uhr ins Bett gehen und um 06:00 Uhr am Experimentaltag aufstehen.**
- **Am Morgen des Experiments nicht mit dem Fahrrad kommen!!!**

07:00 Uhr

1) Ankunft des Probanden

Datum	: _____
Ankunft	: _____ (Uhr)
Proband	: _____
Wie hast du letzte Nacht geschlafen?	

Wann bist du heute Morgen aufgestanden?	

Hast du die letzten 12 h Alkohol oder koffeinhaltige Getränke zu dir genommen?	

Versuchstag	: Tag 1 † Tag 2 †
Letzte Mahlzeit	: _____ (Uhrzeit)
Gewicht (Blase entleeren):	_____ (kg) Größe: _____ (m) Alter _____
(Jahre)	

2) Proband soll auf die Toilette gehen

3) Proband legt sich ins Bett. Uhrzeit: _____ Uhr

4) Venösen Zugang legen.

07:30 Uhr

- 1) Raumtemperatur: _____ °C (Temperaturmesser liegen im Hs 13).
- 2) **Viscale 1; SSS (Stanford-Schläfrigkeitsskala)**

08:00 Uhr

1) **Viscale 2; SSS 2**

2) **Blutabnahme -1**

DANACH : Bioimpedanzanalyse

08:20 Uhr

- 1) **KALORIMETER JETZT KALIBRIEREN!**
- 2) Haube aufsetzen.

08:30 – 09:00 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

Probandencode : _____

Versuchsdatum : _____

Uhrzeit : 08:30 Uhr

Tag 1 † Tag 2 †

Zeit	VCo2 (ml)	VO2 (ml)	RQ	EE
1 min				
2 min				
3 min				
4 min				
5 min				
6 min				
7 min				
8 min				
9 min				
10 min				
11 min				
12 min				
13 min				
14 min				
15 min				
16 min				
17 min				
18 min				

19 min				
20 min				
21 min				
22 min				
23 min				
24 min				
25 min				
26 min				
27 min				
28 min				
29 min				
30 min				

09:00 Uhr

Blutabnahme 0 :

09:10 Uhr

INTRANASALE INSULINAPPLIKATION

1 Hub alle 2 Minuten; Proband soll im Bett liegend den Kopf überstrecken

09:40 Uhr

Blutabnahme 1 :

09:45 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

10:15 Uhr

1) Viscale 3; SSS 3

2) zwischen 10:16 – 10:18 Uhr Beginn

600 ml per os Fresubin Energy Drink = 900 kcal.

Trinkrate: 20 ml jede Minute über insgesamt 30 Minuten → benutze 20 ml Medibecher

3) Blutabnahme 2 (10:20 Uhr):

4) Blutabnahme 3 (10:30 Uhr):

5) Blutabnahme 4 (10:40 Uhr):

10:45 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

11:15 Uhr

- 1) Glas Mineralwasser ~ 150 ml
- 2) **Viscale 4; SSS 4**

ca. 11:30 Uhr

Blutabnahme 5

11:45 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

12:15 Uhr

- 1) Glas Mineralwasser ~ 150 ml
- 2) **Viscale 5; SSS 5**

ca. 12:30 Uhr

Blutabnahme 6

12:45 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

13:15 Uhr

- 1) Glas Mineralwasser ~ 150 ml
- 2) **Viscale 6; SSS 6**

ca. 13:30 Uhr

Blutabnahme 7

13:45 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

14:15 Uhr

- 1) Glas Mineralwasser ~ 150 ml
- 2) **Viscale 7; SSS 7**

ca. 14:30 Uhr

Blutabnahme 8:

14:45 Uhr

Indirekte Kalorimetrie

15:15 Uhr

- 1) Glas Mineralwasser ~ 150 ml
- 2) **Viscale 8; SSS 8**

ca. 15:55 Uhr

Blutabnahme 9

Besondere Vorkommnisse? Irgend etwas zu vermerken?:

Frage den Probanden, was er glaubt genommen zu haben (Kreuzchen): Insulin
__ Placebo __

Ist Ihnen irgendetwas aufgefallen (z.B. fühlte mich klüger, fitter, aufmerksamer, gut gelaunter, matt, usw.)?

8. Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Jan Born, dem ehemaligen Leiter des Instituts für Neuroendokrinologie der Universität zu Lübeck für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der benötigten Materialien. Ein weiterer Dank geht an Herrn Prof. Dr. Lehnert, kommissarischer Leiter des Instituts, für die Unterstützung bei der Finalisierung dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank geht an meinen Betreuer Dr. Christian Benedict und meinen Doktorvater PD. Dr. Manfred Hallschmid für die Anleitung und die stets hilfreiche Unterstützung meiner Arbeit. Außerdem danke ich ihnen für die großzügige Hilfe bei der statistischen Auswertung und für die umfangreiche Beratung und Korrektur bei der Entstehung der Dissertation.

Bei Frau Heidi Ruf, Frau Martina Grohs und Frau Ingrid von Lützuau möchte ich mich für die laborchemische Arbeit bedanken. Frau Anja Niepelt danke ich für die stets schnelle Organisation der Materialien und der Forschungsräume.

Des Weiteren danke ich allen Mitgliedern der Forschergruppe und dem gesamten Team des Instituts für Neuroendokrinologie, auf deren Hilfsbereitschaft immer Verlass war. Ich danke den Probanden für die zuverlässige Teilnahme an den beiden Versuchstagen.

Zudem möchte ich mich bei meinem Freund Herrn Patrick Dieker, Frau Dr. Dr. Birgit Harbeck und Frau Karen Gutjahr für die Hilfe bei der Korrektur dieser Arbeit bedanken.

Nicht zuletzt geht mein besonderer Dank an meine Eltern und meinen Bruder ohne deren großzügige Unterstützung das Medizinstudium und damit auch diese Dissertation nicht möglich gewesen wären.

9. Lebenslauf

Name	Swantje Brede	
Geburtsdatum	12.09.1985	
Geburtsort	Kassel	
Familienstand	ledig	
Schulbildung	1992-1996 Grundschule: Jungfernkopf-Schule, Kassel 1996-2002 Mittelstufe: Gesamtschule Ahnatal, Vellmar 2002-2005 Oberstufe: Jacob-Grimm-Schule, Kassel, Allgemeine Hochschulreife Sommer 2005	
Universitäre Ausbildung	2005-2012 Studium der Medizin an der Universität zu Lübeck 2008-2010 Famulaturen in den Fachbereichen Innere Medizin, Rehabilitationsmedizin, Radiologie und Hand- und Kinderchirurgie 2011-2012 Praktisches Jahr, Wahlfach: Radiologie, 8-wöchiger Abschnitt dieses Wahlfachs im Mater Dei Hospital, Malta	
Examina	Frühjahr 2008 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung Frühjahr 2012 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung	
Berufliche Ausbildung	seit 01.09.2012 Assistenzärztin in der Medizinischen Klinik I, UKSH, Campus Lübeck	
Dissertation	experimentelle Arbeit 02-06/2009, sowie zur nachträglichen Erhöhung der Fallzahl 05-07/2010	

10. Publikationsverzeichnis

Benedict, C., Brede, S., Schiöth, H. , Lehnert, H., Schultes, B., Born, J. und Hallschmid, M.: Intranasal Insulin Enhances Postprandial Thermogenesis and Lowers Postprandial Serum Insulin Levels in Healthy Men. *Diabetes* 60: 114-118, 2011

Benedict, C., Brede, S., Schiöth, H. , Lehnert, H., Schultes, B., Born, J. und Hallschmid, M.: Intranasales Insulin steigert die nahrungsinduzierte Thermogenese und mindert die postprandiale Insulinantwort beim Menschen. *Insiderwissen Diabetologie*: 2-8, 2011