

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

**Der Einfluss von intranasal appliziertem
Corticoliberin auf die Lipolyse im Muskel –und
Fettgewebe junger Männer**

INAUGURALDISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER UNIVERSITÄT ZU LÜBECK
- AUS DER SEKTION MEDIZIN -

vorgelegt von
Friederike Jacobs
aus Hagen

Lübeck 2013

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Christoph Dodt

2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Josef Hoch

Tag der mündlichen Prüfung: 21.05.2014

Zum Druck genehmigt. Lübeck, den 21.05.2014

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

I Inhaltsverzeichnis

I Inhaltsverzeichnis	III
II Abkürzungsverzeichnis.....	VI
1 Einleitung.....	8
1.1 Fettgewebe und Lipolyse	10
1.1.2 Fettgewebe in der Skelettmuskulatur	13
1.2 Die Rolle des CRH in der Energiehomöostase	14
1.3 Mikrodialyse zur Erfassung von CRH Effekten auf die Lipolyse	15
1.4 CRH und das sympathische Nervensystem.....	16
1.5 Barorezeptorreflex	18
1.6 Intranasale Applikation	19
1.7 Thema und Fragestellung.....	20
2 Material und Methoden.....	22
2.1 Studienkonzept.....	22
2.1.1 Probanden.....	22
2.2 Allgemeiner Versuchsablauf	23
2.3 Mikrodialyse	26
2.4 Mikroneurographie	27
2.4.1 Allgemeine und Technische Grundlagen	27
2.4.2 Mikroneurographische Ableitung.....	27
2.4.3 Mikroneurographische Auswertung	28
2.5 Laser Doppler Flowmetrie	29
2.6 Powerlab	29
2.7 Analytik der Blutproben	29
2.8 Statistik.....	30
3. Ergebnisse	31
3.1 Gewebepfusion	31
3.1.1 Hautperfusion	31
3.1.2 Subkutane Perfusion	32
3.2 Interstitielle Metabolitkonzentrationen.....	32
3.2.1 Glukose.....	33
3.2.2 Laktat	34
3.2.3 Glycerol	35
3.2.4 Pyruvat.....	37

3.3 Sympathische Nervenaktivität.....	38
3.4 Plasma- und Serumkonzentrationen.....	40
3.4.1 Cortisol im Serum	40
3.4.2 ACTH im Serum	41
3.4.3 Glukose im Serum.....	41
3.4.4 Laktat im Serum	42
3.4.5 Glycerol im Serum	42
3.4.6 Adrenalin im Serum.....	43
3.4.7 Noradrenalin im Serum.....	44
3.4.8 Freie Fettsäuren im Serum	45
3.4.9 Insulin im Serum.....	45
3.4.10 Adiponektin im Serum	46
3.4.11 Pyruvat im Serum	46
3.5 Vitalparameter	47
3.5.1 Herzfrequenz	47
3.5.2 Blutdruck.....	47
4. Diskussion	48
4.1 Sympathische Nervenaktivität.....	48
4.2 Effekte durch CRH auf die Perfusion von Haut- und Unterhautfettgewebe	49
4.3 Effekte von CRH auf den Metabolismus in Muskel- und Fettgewebe	50
4.4 Veränderungen der Plasma- und Serumkonzentrationen.....	51
4.5 Limitationen der Studie	52
4.6 Klinische Relevanz	53
5. Zusammenfassung.....	54
6. Literaturverzeichnis	56
7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	62
7.1 Tabellen.....	62
7.2 Abbildungen.....	62
8. Anhang.....	64
8.1 Liste der verwendeten Materialien.....	64
8.2 Wertetabellen.....	65
8.1 Probandenaufklärung	70
8.2 Ethikvotum	71
8.3 Danksagung.....	71
8.4 Lebenslauf.....	73

II Abkürzungsverzeichnis

Im Folgenden sind alle verwendeten Abkürzungen mit Ausnahme der im Duden zugelassenen Standardabkürzungen aufgeführt.

Abb.	Abbildung
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ANOVA	Analysis of variance/Varianzanalyse
ATGL	adiopse triglyceride lipase
α -MSH	α -Melanozyten stimulierendes Hormon
β -LPH	β -Lipotropin
β -HSD	β -Hydroxysteroiddehydrogenase
BDNF	Brain derived neurotropic factor
BMI	Body-Mass-Index
CRH	Corticotropin-Releasing Hormon/Corticoliberin
CRH-bp	CRH-Bindungsprotein
CRH-R	CRH-Rezeptor
CV	Coefficient of variance/Variationskoeffizient
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
EKG	Elektrokardiogramm
FFA	free fatty acids/freie Fettsäuren
HPA-Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
i.c.v.	intracerebroventrikulär
kg	Kilogramm
LDF	Laser-Doppler-Flowmetrie
M.	Musculus
MD	Mikrodialyse
MSA	Sympathetic muscular activity, muskuläre Sympathikusaktivität
MW	Mittelwert
N.	Nervus
NO	Stickstoffmonoxid
POMC	Proopiomelanocortin
PU	Perfusion units
SD	Standardabweichung/Standard deviation
SEM	Standard error of the mean

SSA	Skin sympathetic activity
Tab.	Tabelle
WHR	Waist-hip ratio

1 Einleitung

In der westlichen Welt und auch in den sogenannten Schwellenländern stellt der Anstieg der Adipositas Prävalenz ein zunehmendes gesundheitsökonomisches Problem dar [1]. Wie das Statistische Bundesamt mitteilte, waren im Jahr 2005 insgesamt 58% der erwachsenen Männer und 42% der erwachsenen Frauen in Deutschland übergewichtig. Im Ernährungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Ernährung von 2008 bestätigt die DGE diese Ergebnisse und beobachtete bei den über 55-jährigen Frauen sogar eine Zunahme des Übergewichtes auf über 50%. Somit ist fast jeder zweite Erwachsene in Deutschland übergewichtig. Besonders erschreckend jedoch ist die Zunahme von Übergewicht und Adipositas bei Kindern und Jugendlichen und die Tatsache, dass übergewichtige Kinder mit großer Wahrscheinlichkeit auch übergewichtige Erwachsene werden [2]. Ursächlich für diese Entwicklung werden vor allem eine weit verbreitete Fehlernährung, zunehmender Bewegungsmangel und auch genetische Faktoren angesehen [1]. Die Adipositas ist definiert als eine über das Normalmaß hinausgehende Vermehrung des Körperfetts. Wobei hier die Zunahme der Masse des weißen Fettgewebes gemeint ist. Folgeerkrankungen wie Atherosklerose, Hypertonie, Dyslipidämie und eine gestörte Glukosehomöostase, die gerade in der Summe ein hohes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen bedeuten, sind für viele adipöse Patienten somit oft unausweichlich. Die Kombination dieser Erkrankungen wurde 1988 von Reaven et al. unter dem Namen „Metabolisches Syndrom“ (Wohlstandssyndrom) zusammengefasst [3].

Die Erforschung des Fettgewebes hat in den letzten Jahren erheblich an Bedeutung gewonnen, da die ernährungsbedingten Erkrankungen mittlerweile einen hohen Kostenanteil im deutschen Gesundheitssystem ausmachen. Heute besteht der Konsens, dass die Adipositas bis auf wenige Ausnahmen eine multifaktorielle Erkrankung ist. Neben genetisch festgelegten Merkmalen, spielen Umwelteinflüsse ebenso eine Rolle wie veränderte Funktionen von Regelkreisen, die der Energiehomöostase dienen [4]. Um die Grundlagen für neue effektive Therapie-Ansätze zu schaffen, ist es unabdingbar, den Fettgewebsmetabolismus genau zu verstehen und mögliche zentrale, sowie periphere Steuerungsmechanismen zu erfassen. Im Rahmen des menschlichen Energiestoffwechsels und der körpereigenen Gewichtskontrolle nimmt das Corticotropin releasing hormone eine entscheidende Rolle ein. So wird dem CRH in den bisher durchgeführten Studien eine anorektische Wirkung (die Nahrungsaufnahme hemmende Wirkung) zugeschrieben [5, 6].

Das CRH wird in den Nuclei paraventricularis und supraopticus des Hypothalamus gebildet. Hypothalamus, Hypophyse und Nebenniere sind in gennanter Reihenfolge hierarchisch angeordnet und bilden die Hauptbestandteile eines neuroendokrinen Regelkreises [7]. Im Hypophysenvorderlappen erfolgt durch CRH-Stimulation die Produktion des ACTH. Über die Blutzirkulation gelangt ACTH zur Nebennierenrinde und sorgt schließlich für die Freisetzung des Glukokortikosteroids Cortisol [8]. Das Cortisol hat in der Peripherie u.a. metabolische Effekte wie die Steigerung der Glukoneogenese, des anabolen Stoffwechsels und die Erhöhung der freien Fettsäuren [7].

Die Plasmakonzentrationen von CRH werden fast ausschließlich in klinischen Studien bestimmt. Im klinischen Alltag werden stattdessen die Plasmakonzentrationen von ACTH (Normwert zwischen 8:00-10:00 Uhr. 10-60 pg/ml) [9] und Cortisol (Normwert zwischen 8:00-10:00 Uhr 9-25 mg/dl) zur Untersuchung von Fehlregulationen in der HPA-Achse herangezogen [10].

Der Einfluss von CRH auf die Lipolyse wurde in mehreren Studien untersucht. Diese zeigten unterschiedliche Ergebnisse:

Nach intravenöser Applikation von CRH bei normalgewichtigen Frauen wurde eine signifikant gesteigerte Lipolyse im subkutanen Fettgewebe nachgewiesen [11]. 11- β -Hydroxysteroid- dehydrogenase1 (11 β -HSD1) ist ein Enzym, welches die Konversion von inaktivem Cortison in aktives Cortisol katalysiert. Die 11 β -HSD1 wird in vielen Geweben exprimiert, unter anderem auch im subkutanen Fettgewebe [12]. CRH und ACTH hemmen die Aktivität von 11 β -HSD1 und induzieren dadurch eine vermehrte Lipolyse, sowie eine verringerte Reifung von Prä-Adipozyten in mature Adipozyten [13]. Bei adipösen Patienten wurde eine verringerte Lipolyse bedingt durch verringerte Aktivität des sympathischen Nervensystems nachgewiesen [14]. Von CRH, wie auch ACTH ist ein sympathoexzitatorischer Effekt bekannt [15, 16]. CRH könnte somit zusätzlich über eine Beeinflussung des sympathischen Nervensystems die Lipolyse beeinflussen.

Im weiteren Verlauf der Einleitung wird auf die verschiedenen Theorien weiter eingegangen.

1.1 Fettgewebe und Lipolyse

Das Fettgewebe kann in zwei verschiedene Typen – weißes und braunes Fettgewebe – unterteilt werden [17]. Das braune Fettgewebe wurde in den letzten Jahren zunehmend untersucht, spielt beim Erwachsenen im Gegensatz zu den Neugeborenen quantitativ jedoch eine untergeordnete Rolle [18]. Das braune Fettgewebe wird aktuell axillär, cervical und perirenal vermutet und hat vor allen Dingen thermogenetische Aufgaben. Es ist in seiner Funktion auf Grund seiner Lage und Verteilung somit nur sehr schlecht zu untersuchen und wird hier nicht behandelt [19]. Dahingegen ist die Bedeutung des weißen Fettgewebes für den Wärme- und Wasserhaushalt gut untersucht.

Das weiße Fettgewebe befindet sich zum einen subkutan direkt unter der Haut, zum anderen direkt an die inneren Organe angelagert, als viszerales Fettgewebe. Es dient dem Körper als Energiereservoir, der thermischen Isolierung und erfüllt mechanische Aufgaben [20]. Zusätzlich ist es als endokrines Organ eng in den Energiehaushalt eingebunden. Der mittlere Fettgehalt ist erheblich von der Ernährungssituation des Menschen abhängig und beträgt durchschnittlich ca. 20 Prozent [20]. Nicht nur das Ausmaß des Übergewichtes, welches über den BMI erfasst wird, sondern auch das Fettverteilungsmuster bestimmt das metabolische und kardiovaskuläre Gesundheitsrisiko. Als einfachstes Mittel zur Bestimmung des viszeralen Körperfetts hat sich die Messung des Taillen- und Hüftumfanges bewährt. Wird das Verhältnis vom Taillen- zum Hüftumfang, die so genannte Waist-hip ratio (WHR), herangezogen, so besteht bei Frauen bei einem Verhältnis $\geq 0,8$ und bei Männern $\geq 1,0$ ein erhöhtes Gesundheitsrisiko [21, 22].

Das individuelle Körpergewicht wird durch einen engen Regelkreis mit Feedback-Mechanismen zwischen Hypothalamus und peripherem Fettgewebe reguliert. Dieser Mechanismus wird „crosstalk“ genannt und wird durch mehrere Faktoren beeinflusst. Zum einen durch die unten aufgeführten Adipokine (Hormone), zum anderen neural durch das autonome Nervensystem und genetisch durch den festgelegten „body-weight-setpoint“. Der „body-weight-set-point“ wird von zentral regulierten Mechanismen bestimmt und ist bei übergewichtigen Personen abnorm erhöht [23]. Durch die dargelegten neuroendokrinen Regelkreise wird ein Gleichgewicht des Körpergewichtes erhalten, wobei der Setpoint bei adipösen Menschen zu einem höheren Körpergewicht hin verschoben ist. Erfolgsorgan der

Regelkreise ist der Adipozyt (Fettzelle), der lipogenetischen und lipolytischen Einflüssen unterliegt.

In den Vakuolen der Adipozyten werden die mit der Nahrung zugeführten Triglyceride gespeichert. In Fastenperioden können die Triglyceride in die Bestandteile Glycerin und Fettsäuren gespalten werden. Dieser Vorgang wird als Lipolyse bezeichnet, katalysiert wird er durch die hormonsensitive Lipase [24]. Die freien Fettsäuren gelangen ins Plasma und werden zur Energiegewinnung genutzt. Für den Auf- und Abbau des Fettgewebes sind viele verschiedene Faktoren zuständig. So wird die Lipolyse durch Insulin und sympathische α 2-Rezeptor-Stimulation gehemmt, während sie durch Stimulation von β -Rezeptoren (Subtyp 1-3) gefördert wird [25, 26]. Die zentrale Bedeutung des sympathischen Einflusses bei der Genese der Adipositas verdeutlichen Studien, die eine verminderte Sympathikus - vermittelte Lipolyse bei adipösen Patienten nachweisen konnten [14]. Parasympathische Einflüsse auf den Fettgewebstoffwechsel konnten bisher nur in Tierversuchen beobachtet werden [27] und ihre Bedeutung beim Menschen ist ungeklärt.

1994 beschrieben Zhang et al. erstmals das Leptin als einen vom weißen Fettgewebe produzierten Botenstoff, der über zentrale Rückkopplungsmechanismen das Essverhalten verändert [28]. Es reguliert als afferenter Teil eines negativen Feed-back-Systems Appetitkontrolle und Nahrungsmittelzufuhr [29]. Zahlreiche weitere vom Fettgewebe produzierte Hormone - Adipokine genannt – sind mittlerweile beschrieben und in ihrer Funktionsweise aufgeklärt worden. Es existiert eine Vielzahl weiterer an der langfristigen Bilanzierung der Energiezufuhr und der Gewichtregulation beteiligter Hormone und Neurotransmitter. Eine Auflistung einiger, dieser auch als Anorexigene (die Nahrungsaufnahme hemmende Substanzen) und Orexigene (den Appetit steigernde Substanzen) bezeichneten Stoffe [30] zeigt Tabelle 1.1.

Tab.1.1: Wichtige, an der Nahrungsaufnahme und Gewichtsregulation beteiligte Hormone und Neurotransmitter

Anorexigene	Orexigene
Leptin	Neuropeptid Y
Insulin	Orexin A und B
Corticotropin-Releasing Faktor	Noradrenalin
Alpha-Melanozyten-stimulierendes Hormon	Agouti-related protein
Serotonin	Melanin-konzentrierendes Hormon
Thyroides stimulierendes Hormon	Glukokortikoide

Die Durchblutung ist ein weiterer Faktor, der den Fettgewebsmetabolismus beeinflussen kann. Das Fettgewebe ist sehr gut vaskularisiert. Je stärker die Durchblutung ist, desto schneller können Hormone, FFA und weitere Metabolite in das Fettgewebe hinein- bzw. heraustransportiert werden. Der Gefäßtonus unterliegt unter anderem ebenfalls der Regulation durch das sympathische Nervensystem. Eine α -Rezeptor-Stimulation bewirkt eine Vasokonstriktion, die Vasodilatation wird durch β -Rezeptoren vermittelt [31] und es ist davon auszugehen, dass an den Gefäßen freigesetzte Katecholamine auch Effekte an den umliegenden Adipozyten haben.

Um in unserer Arbeit die Durchblutung des Fettgewebes zu erfassen, wurde die Laser Doppler Flowmetrie (LDF) eingesetzt. Die LDF stellt eine Möglichkeit zur Messung der kapillären Perfusion dar. Sie kam erstmals 1977 zur klinischen Anwendung [32]. Ein über eine Fiberoptik applizierter Laserstrahl niedriger Energie wird im Zielgewebe gebrochen und absorbiert. Beim Auftreffen auf sich bewegende Blutkörperchen wird der Strahl teilweise reflektiert und gemäß des Doppler-Prinzips in seiner Frequenz verändert. Dabei ist die Frequenz Änderung proportional zur Geschwindigkeit. Die reflektierten Strahlen können über einen optischen Detektor aufgenommen und in ein elektronisches Signal umgewandelt und analysiert werden. Die Einheit der so erhaltenen Werte wird in willkürlich festgelegten Perfusion Units (PU) angegeben. Um vergleichbare Werte zu erhalten, wird die Sonde in einer speziellen Eichlösung gegen die Braun'sche Molekularbewegung kalibriert. Die LDF wird sowohl nicht-invasiv, durch auf die Haut geklebte Sonden, als auch minimal-invasiv, durch in das Fettgewebe eingebrachte Sonden

eingesetzt. Die Messung der mikrovaskulären Perfusion erfolgt hierbei in Echt-Zeit. Für die Messung des kutanen und subkutanen Blutflusses ist die LDF in einer kürzlich durchgeführten Studie an normal- und übergewichtigen Probandinnen validiert worden [33].

1.1.2 Fettgewebe in der Skelettmuskulatur

Auch in der Muskulatur finden sich Adipozyten, die offensichtlich in der Energiehomöostase eine bedeutsame Rolle spielen. In Tierversuchen am Schwein wurden die Adipozyten zwischen den Muskelfasern mit den Adipozyten aus dem subkutanen und viszeralen Fettgewebe verglichen. Die Adipozyten der Muskelfasern wiesen nach Stimulation durch Insulin- oder Katecholamine eine verringerte Lipolyse auf [34]. Zusätzlich konnte ebenfalls im Tierversuch eine verringerte metabolische Aktivität der intramuskulären Adipozyten beobachtet werden [35]. Diese Ergebnisse konnten von Quisth et al. am Menschen bestätigt werden. Nach i.v. Applikation physiologischer Mengen Noradrenalin konnte im subkutanen Fettgewebe eine gesteigerte Lipolyse und Durchblutung beobachtet werden, während im Muskel keine gesteigerte Lipolyse stattfand, und die Durchblutung noch dazu abnahm [36]. Hagström-Toft et al. kommen bei der Beschreibung verschiedener menschlicher Skelettmuskeln zu dem Ergebnis, dass es Unterschiede in der lipolytischen Aktivität der Muskeln gibt, die wohlmöglich durch die unterschiedliche Zusammensetzung der Muskelfasertypen erklärt werden kann. Zudem beobachteten sie im Muskel einen zehnfach höheren Triglyceridumsatz als im subkutanen Fettgewebe [37]. Erstmals konnte 2008 die Existenz der Lipase ATGL (adiopse triglyceride lipase) in der Skelettmuskulatur nachgewiesen werden. Die Lipase, die bisher nur aus dem subkutanen Fettgewebe extrahiert werden konnte, stellt eine entscheidende Regulationsfunktion der Lipolyse dar [38]. Solinas G et al. wiesen am Mausmodell nach, dass CRH zu einer Zunahme der Thermogenese der Skelettmuskulatur führt, am ehesten durch einen Substratzyklus zwischen Lipogenese und Lipidoxidation. Durch eine Blockade von CRH-R2 lässt sich dieser Effekt abschwächen, bzw. aufheben [39], was auf einen direkten CRH-Effekt auch auf die Skelettmuskulatur über zellmembranständige Rezeptoren hindeutet. Peripher gegebenes CRH verursacht beim Menschen eine Lipolyse im subkutanen Fettgewebe, welche wahrscheinlich über periphere membranständige Rezeptoren vermittelt wird [11].

1.2 Die Rolle des CRH in der Energiehomöostase

Gesichert ist, dass die Energiehomöostase durch komplexe, interagierende Mechanismen gesteuert wird. Bisher wurden nur wenige Studien durchgeführt, die Effekte einer zentralen CRH-Applikation am Menschen untersuchen. Mittels indirekter Kalorimetrie belegten Smith et al. eine CRH-vermittelte Steigerung des Energie-Umsatzes in vivo [40]. CRH führte zur Zunahme der Fettoxidation, ohne dass eine erhöhte Lipolyserate oder eine gesteigerte Katecholaminausschüttung nachgewiesen wurde [40]. In Tierversuchen führt die intraventrikuläre Gabe von CRH zu einer Sympathoexzitation [32, 41]. In-vitro - Studien konnten zeigen, dass eine 24-stündige Inkubation von Adipozyten mit CRH zu einer Herabsetzung der Lipolyse [12] und zu einer Down-Regulation von CRH-Rezeptoren [42] führt. Bisher wurden beim Menschen 2 Subtypen – CRH-R1 und CRH-R2 – von CRH Rezeptoren beschrieben [43]. Die CRH-R sind siebenfach membrangängige, Gs-Protein gekoppelte Peptide, die nach der Liganden-Bindung unter anderem zu einer Aktivierung Adenylatzyklase-abhängiger Signalkaskaden führen. Im ZNS befinden sich vorwiegend CRH-R1, die an der hypophysären Steuerung beteiligt sind [44]. In peripheren Organen z.B. in der Haut, im Fettgewebe, am Herzen oder im Myometrium, werden vorwiegend CRH-R2 exprimiert [43, 45, 46]. Die Verteilung der CRH-R im subkutanen und viszeralen Fettgewebe unterscheidet sich erheblich [42]. CRH-R1 werden vermehrt im subkutanen, CRH-R2 vorwiegend im viszeralen Fettgewebe exprimiert. Ein derartiger Befund der Rezeptorverteilung lässt vermuten, dass CRH sowohl zentrale als auch periphere Effekte auf den Energiehaushalt hat. Aktuell gelang es Toriya et al. 2010 im Tierversuch zusätzlich zu einem unspezifischen CRH-Antagonisten einen selektiven Antagonisten für den CRH-R2 Rezeptor an den Adipozyten einzusetzen. In ihrer Studie applizierten sie BDNF (Brain derived neurotropic factor) intra-cerebro-ventrikulär in den lateralen Ventrikel und den paraventrikulären Nucleus des Hypothalamus. Sie beobachteten eine Zunahme der mRNA-Expression von CRH und konnten eine signifikante Reduktion des subkutanen und viszeralen Fettgewebes, sowie eine Verminderung der Adipozytengröße und der Serumtriglyzeride nachweisen. Die Effekte konnten durch die Gabe des selektiven CRH-R2 –Antagonisten vollständig aufgehoben werden [47], so dass eine periphere Wirkung des CRH auf den Fettgewebsstoffwechsel zu vermuten ist.

1.3 Mikrodialyse zur Erfassung von CRH Effekten auf die Lipolyse

Zur Messung der Zusammensetzung von Stoffwechselprodukten der interstitiellen Flüssigkeit stellt die von uns angewandte Methode der Mikrodialyse ein erprobtes Verfahren dar. Im Gegensatz zur Bestimmung der Blutparameter, die globale Veränderungen des gesamten Organismus anzeigen, ermöglicht das Verfahren der Mikrodialyse einen direkten Einblick in die Zellhomöostase des betreffenden Gewebes. 1987 erfolgte die erste Anwendung im subkutanen Fettgewebe beim Menschen [48]. In vielen Studien ist sie seitdem als wissenschaftliche Methode etabliert worden [49-51]. Die Hauptanwendung findet die Mikrodialyse heute im subkutanen Fettgewebe, in der Skelettmuskulatur und im ZNS. Aber auch andere Gewebe wie Herzmuskulatur oder Lunge werden mit dieser Technik untersucht.

Die Grundlage der Methode ist das Dialyseprinzip. Die Mikrodialysesonde imitiert funktionell eine Blutkapillare, indem Substanzen in das Gewebe hineintransportiert und aus dem Extrazellularraum eliminiert werden können. Die doppellumige Membran wird kontinuierlich über eine am zuführenden Schenkel konnektierte Präzisionspumpe (CMA 107/CMA Microdialysis, Stockholm/Schweden) mit dem Perfusat durchflossen.

Durch die Perfusion der Membran mit einer sterilen Ringerlösung, die frei ist von den zu dialysierenden Substanzen, diffundieren die im interstitiellen Raum vorliegenden, löslichen Moleküle entsprechend des vorliegenden Konzentrationsgradienten in die Perfusionslösung und werden zur nachfolgenden Analyse passiv in einen speziellen Auffangbehälter transportiert [52].

Wellhöner et al. beobachteten nach intravenöser CRH Applikation beim Menschen eine gesteigerte Lipolyse im subkutanen Fettgewebe [11], welche einen unmittelbaren Einfluss von CRH auf die Adipozyten vermuten lässt. In diese Studie wurden ausschließlich weibliche Probandinnen eingeschlossen. Für eine Infusion von CRH-haltigem Perfusat über die Mikrodialyse - um die lokale Wirkung von CRH auf das Fettgewebe in vivo zu untersuchen - wäre eine Porengröße von 100.000 Dalton erforderlich um das Dialysat in das Interstitium diffundieren zu lassen. Diese stehen aktuell für Humanversuche jedoch nicht zur Verfügung. Grundsätzlich erscheint der Einsatz eines CRH-Agonisten als Möglichkeit der Beeinflussung falschen Essverhaltens und möglicherweise als Therapeutikum zur Gewichtsregulation bei Adipositas denkbar [5]. Eine Aktivierung der

corticotropen Achse mit daraus resultierendem Hypercortisolismus muss natürlich unterbunden werden.

1.4 CRH und das sympathische Nervensystem

Die sympathische Nervenaktivität hat einen Einfluss auf die Stoffwechselfvorgänge im subkutanen, menschlichen Fettgewebe und es erscheint möglich, dass Effekte von CRH auf das Fettgewebe auch durch das sympathische Nervensystem vermittelt werden können. In Tierversuchen konnte nachgewiesen werden, dass CRH nach i.c.v.-Applikation eine Aktivierung und Modulierung des sympathischen Nervensystems hervorruft [53]. Die zentrale Bedeutung des sympathischen Einflusses bei der Genese der Adipositas verdeutlichen Studien, die eine verminderte Sympathikus-vermittelte Lipolyse bei adipösen Patienten nachweisen konnten [14]. Parasympathische Einflüsse auf den Fettgewebsstoffwechsel konnten bisher nur in Tierversuchen beobachtet werden [27]. Beim Menschen konnte sowohl eine durch ACTH vermittelte Sympathikusaktivierung, als auch ein sympathoexzitatorischer Effekt von CRH beobachtet werden [15, 16]. Die Aktivität der peripheren prä- und postganglionären sympathischen Neurone wird zentralnervös über autonome Zentren, insbesondere des Hirnstamms (Medulla oblongata, Pons, Mesencephalon) gesteuert. Diese integrieren auch die Einflüsse höherer zentralnervöser Zentren, wie die des limbischen Systems und des Hypothalamus.

1967 veröffentlichten Hagbarth und Vallbo eine Methode zur in vivo-Ableitung der Nervenaktivität beim Menschen mittels perkutan eingebrachter Elektroden, die Mikroneurographie [54]. Sie dient der Erforschung der proprio- und nozizeptiven Impulse sowie der minimal invasiven Erfassung der efferenten sympathischen Nervenaktivität [55-59].

Mit der Mikroneurographie ist es möglich, Potentialänderungen einzelner oder mehrerer Nervenfasern in einem oberflächlich gelegenen peripheren Nerven, wie z.B. dem N. peroneus superficialis gegen eine Referenzelektrode abzuleiten. Gemessen werden so genannte Bursts (in akustische und optische Signale umgewandelte Summenpotenziale sympathischer C-Fasern), die durch die zeitgleiche Entladung der Neurone entstehen. Bei der Ableitung der efferenten sympathischen Nervenaktivität sind zwei unterschiedliche Typen zu unterscheiden: Die muskuläre sympathische Nervenaktivität (MSA) und die

sympathische Aktivität der Haut (SSA: Skin sympathetic activity). Die MSA vermittelt hauptsächlich die Kontraktion der Gefäßmuskulatur und dient somit der Regulation des peripheren Widerstandes [60]. Das Burstmuster ist typischerweise pulssynchron. Dagegen ist das Burstmuster bei der SSA nicht pulssynchron. Eine Zunahme der Burstfrequenz oder –amplitude führt zu Änderungen des elektrischen Hautwiderstandes, des vaskulären Widerstandes und des Blutdrucks [61, 62], was auf eine Mischung aus sudomotorischen und vasokonstriktorisches, aber auch vasodilatatorischen Impulsen hindeutet.

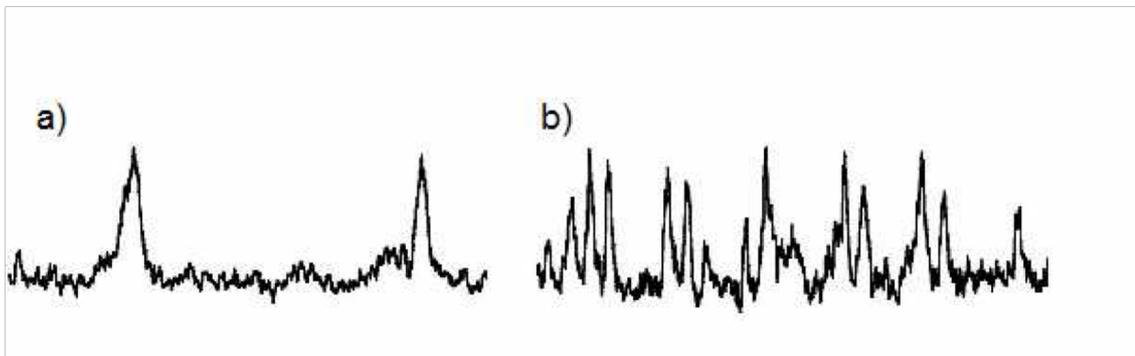


Abb. 1.1: Beispiel einer Ableitung sympathischer Summenpotentiale der MSNA

- a):** Abbildung der Grundfrequenz in Ruhe.
 - b):** Abbildung der Aktivierung z.B. während der medikamentösen Barorezeptorreflextestung
- Abbildung modifiziert nach Wilson [63].

1.5 Barorezeptorreflex

Die muskuläre Sympathikusaktivität, die den Tonus der Muskulatur von Blutgefäßen reguliert, wird stark durch Einflüsse des Barorezeptors (Aortenbogen/Carotissinus) beeinflusst [64]. Der Barorezeptorreflex steuert die Anpassung des kardiovaskulären Systems an wechselnde Erfordernisse. Durch eine Dehnung der Gefäßwände wird in Abhängigkeit von der Höhe des transmuralen Drucks eine Erregung erzeugt [65]. Über einen zentralen Regelkreis löst ein Blutdruckanstieg eine Erregung des Nucleus tractus solitarius und somit eine Erhöhung der Impulsrate der Barorezeptorafferenzen aus. Es kommt nachfolgend zu einer Hemmung der rostroventrolateralen Medulla, und somit zu einer verminderten Aktivität in den sympathischen Neuronen die zu den Widerstandsgefäßen und zum Herzen führen. Umgekehrt bewirkt ein Blutdruckabfall über die Barorezeptorschleife eine Sympathoexzitation [66].

Wellhöner et al. konnten nach der intranasalen Applikation von MSH/ACTH (4-10) eine vermehrte Lipolyse im subkutanen Fettgewebe bei gleichzeitig erhöhter Barorezeptorreflexempfindlichkeit nachweisen [11, 65]. Dieses Ergebnis lässt einen über das sympathische Nervensystem vermittelten lipolytischen Effekt vermuten.

1.6 Intranasale Applikation

Um zentrale Wirkungen von anorexinogenen und orixogenen Hormonen von peripheren Wirkungen unterscheiden zu können ist eine Methode notwendig, die eine isolierte Applikation in das ZNS erlaubt. Im Tierversuch wird dies im Allgemeinen durch einen intraventrikulären Zugang erreicht. Da die Anwendung dieser Methode beim menschlichen Probanden aus nachvollziehbaren Gründen unethisch und nicht möglich ist stellt die intranasale Applikation eine elegante Alternative dar. In den letzten 2 Jahrzehnten wurden zunehmend Beweise erbracht, die das Vorhandensein eines direkten Transportweges zwischen Nase und Gehirn belegen. In zahlreichen Tierversuchen wurde die Aufnahme von Viren, Metallionen und Peptiden über den Nervus olfactorius nach intranasaler Applikation beschrieben [67]. Kern et al publizierten 1999 in einer Doppel-Blind-Studie die direkte Aufnahme von intranasal appliziertem Insulin beim Menschen, mit Hilfe von akustisch evozierten Potentialen, die sich bei Insulin- und Placebobehandlung deutlich unterschieden [68]. Weiter festigen lässt sich die These des Transportes über das olfaktorische Epithel mit der Messung der Liquorkonzentrationen einzelner Medikamente nach intranasaler Applikation am Menschen. Born et al. konnten 10-80 Minuten nach intranasaler Verabreichung von 10mg α - MSH/ACTH4-10, im Vergleich zur Ausgangskonzentration eine statistisch signifikante Akkumulation im Liquor feststellen, während es im Serum zu keiner signifikanten Anreicherung von α -MSH/ACTH4-10 kam. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch für Vasopressin und Insulin erbracht [69]. Im Prinzip lassen sich drei verschiedene Transportwege über die Regio olfactoria beschreiben [70]. Stoffe können zum einen transzellulär durch die Stützzellen des olfaktorischen Epithels, paracellulär durch die unterschiedlichen Zellverbindungen ins ZNS, oder abermals transzellulär über die Riechneurone via axonalem Transport zum Bulbus olfactorius gelangen [71]. Der Transport scheint außerdem von Größen wie Molekulargewicht, Lipophilie und Ionisation abhängig zu sein [70]. Für die intranasale Applikation der Neuropeptide Vasopressin, Insulin und ACTH konnte eine effektive Wirkung bei deutlicher Verminderung systemischer Nebenwirkungen nachgewiesen werden [69, 72]. Einen Nachweis für die zentralnervöse Wirksamkeit von CRH erbrachten Kern et al. 1996. Die Forschergruppe untersuchte die Wirksamkeit von intranasal appliziertem CRH (240 μ g über 2h) auf die Magensäureproduktion beim Menschen und kam zu dem Ergebnis, dass die intranasale Applikation zu einer Verminderung der

Magensäuresekretion und zu einer Veränderung der Stimmungslage der Probanden führt. Da die Plasma Cortisolspiegel und CRH-Werte sich durch die intranasale Applikation nicht veränderten [68], kann eine zentralnervöse Wirkung über einen direkten Weg von der Nase zum Gehirn angenommen werden.

1.7 Thema und Fragestellung

Im Rahmen der Regulation des Energiehaushaltes wird CRH eine zentrale Rolle zugeschrieben. Bisher ist die Wirkung von CRH auf das Fettgewebe hauptsächlich in in vitro Studien untersucht worden. Die Wirkung von CRH in vivo wurde bisher nur in wenigen Studien untersucht. In einer klinischen Studie an 12 gesunden Probandinnen gelang es Wellhöner et al. die Wirkungen von intravenös appliziertem CRH auf den Fettgewebsmetabolismus im subkutanen Fettgewebe in vivo zu untersuchen. Erstmals konnte die Studie zeigen, dass CRH beim Menschen ein signifikantes lipolytisches Potential besitzt [11]. Die Ergebnisse der Studie beschreiben einen unmittelbaren Einfluss des intravenös applizierten CRH auf die Adipozyten, was eine periphere Wirkung des CRH nahe legen könnte. Die zentralnervösen Einflüsse von CRH auf den Fettgewebsmetabolismus, wurden am Menschen bisher jedoch nicht ausreichend untersucht. Ziel unserer Studie ist es daher einerseits die Wirkung von intranasal appliziertem CRH auf den Fettgewebsmetabolismus im Muskel- und subkutanen Fettgewebe zu untersuchen, andererseits soll der Einfluss von CRH auf die sympathische Nervenaktivität beobachtet werden. In meiner Arbeit wurde eine intranasale CRH Applikation aufgrund der Annahme gewählt, dass sie einerseits eine direkte Wirkung des CRH im Gehirn unter Umgehung der Blut-Hirn-Schranke ermöglicht. Andererseits sollten so niedrigere Arzneimitteldosen verwendet und systemische Nebenwirkungen vermieden werden.

Folgende Fragen sollen geklärt werden:

1. Erhöht die intranasale CRH-Applikation die Lipolyse im Skelettmuskel oder subkutanen Fettgewebe? Kann der Einfluss nur lokal begrenzt oder auch systemisch nachgewiesen werden?
2. Welchen Einfluss hat die intranasale CRH-Applikation auf die Durchblutung der Haut und des subkutanen Fettgewebes?

3. Wird durch intranasal appliziertes CRH die sympathische Nervenaktivität zum Muskel und intramuskulären Adipozyten moduliert?

2 Material und Methoden

2.1 Studienkonzept

Die vorliegende Arbeit ist die erste, die in einer doppelblinden, Placebo kontrollierten Studie an 11 gesunden Probanden die Effekte von intranasal appliziertem CRH auf die Lipolyse im abdominalen subkutanen Fettgewebe und in der Skelettmuskulatur in vivo untersucht. Die vorliegende Studie wurde im Labor der Medizinischen Klinik I der Universität zu Lübeck durchgeführt. Vor Beginn der Studie wurde das Konzept der Ethikkommission der Universität zu Lübeck vorgelegt (Aktenzeichen 04- 006, vom 03.02.2004) und von dieser als ethisch unbedenklich beurteilt. Nach einem balancierten cross-over Design wurde den Probanden entweder Placebo (2ml H₂O), oder CRH (100µg/2 ml H₂O) mit Hilfe eines Nasensprays appliziert. Jeder Proband absolvierte zwei Versuchstage an denen er jeweils eines der beiden Nasensprays in unbekannter Reihenfolge erhielt. Die zwei Proben unterschieden sich weder durch den Geruch, noch durch den Geschmack oder die Farbzusammensetzung und konnten somit von den Probanden und Versuchsleitern nicht unterschieden werden. Alle Versuchstage begannen zur gleichen Zeit, um 8:00 Uhr morgens, um zirkadiane Einflüsse auf die Untersuchungsergebnisse zu standardisieren. Zwischen den Versuchstagen wurde ein Mindestabstand von drei Wochen eingehalten. Die sympathische Nervenaktivität wurde über die sogenannte Mikroneurographie erfasst. Zur Untersuchung der Frage, ob der Einfluss des intranasal applizierten CRH eine Veränderung der morgendlichen sympathischen Baroreflex-Antwort auf stimulierende oder dämpfende Reize zur Folge hat, wurde zum Abschluss des Versuches eine pharmakogene Baroreflex-Testung durchgeführt.

2.1.1 Probanden

An der Studie nahmen elf männliche, normalgewichtige Probanden teil. Ein Proband brach die Teilnahme während der Studie auf eigenen Wunsch ab, seine Daten flossen nicht in die Auswertung ein.

Tab.2.1: Probandencharakteristika (MW±SEM)

Alter (Jahre)	26 ± 3,95
Gewicht (kg)	82,2 ± 8,06
Waist-hip ratio	0,84 ± 0,1
Körpermassenindex (kg/m ²)	23 ± 1,92

Alle Probanden wurden ausführlich schriftlich und mündlich über die Untersuchung aufgeklärt und legten Ihr Einverständnis schriftlich nieder (Aufklärungsbogen im Anhang). Die Voraussetzungen, die die Probanden für eine Teilnahme an der Studie erfüllen mussten, sind im Folgenden aufgeführt:

- keine Vorerkrankungen
- keine Medikamentenpflichtigkeit
- keine klinisch relevanten Allergien
- Normalgewicht (BMI zwischen 20-25)
- Nichtraucher
- kein Alkohol – oder Drogenmissbrauch

Vor dem Versuchstag selbst mussten die Probanden eine achtstündige Nahrungskarenz vor dem Versuchsbeginn einhalten. Zusätzlich durfte vor dem Versuchsbeginn kein Koffein konsumiert werden. Exzessive körperliche Belastungen vor dem Versuchstag wurden vermieden, da in der Nacht nach exzessiver körperlicher Belastung niedrigere Cortisol Werte als nach moderater Belastung nachgewiesen werden konnten [73].

2.2 Allgemeiner Versuchsablauf

Die Versuche wurden um 8:00 Uhr, im neurophysiologischen Labor der Medizinischen Klinik I der Universität zu Lübeck, bei einer Raumtemperatur von 22 ± 2°C durchgeführt. Vor Versuchsbeginn wurde das Gewicht, die Größe, der Hüft- und Taillenumfang sowie die Waist-hip ratio gemäß den WHO-Normen bestimmt. Nachdem die Probanden ihre Blase vollständig entleert hatten, nahmen sie eine entspannte, halb sitzende Position auf dem Untersuchungsbett ein. In der rechten Ellenbeuge wurde eine Venenverweilkanüle (Venflon®2, 18G, 80ml/min) in eine Cubitalvene eingebracht. Danach fand über einen

Dreiwegehahn (Discofix®, B.Braun) die erste Blutentnahme statt. Der venöse Zugang wurde durch die langsame Infusion einer Ringer Lösung (Flussgeschwindigkeit <50 ml/h) über den gesamten Versuchszeitraum offen gehalten.

Mit Hilfe einer kleinen Venenverweilkanüle (Venflon, 22GA, 0,98IN) wurde die Sonde zur Messung der abdominalen, subcutanen Fettgewebsdurchblutung platziert, ebenfalls wurde die Sonde zur Messung der Hautdurchblutung auf der Bauchhaut befestigt. Im nächsten Schritt wurden die beiden Mikrodialysekatheter (CMA 62, Cut off 20 kDalton; Carnegie Medical, Stockholm, Schweden) in die Muskulatur des linken Unterarmes und in das abdominale, paraumbilikale subkutane Fettgewebe eingebracht und mittels einer Mikroinjektionspumpe (Carnegie Medical, Stockholm, Schweden) jeweils 30 Minuten bei einer Flussgeschwindigkeit von 1 µl/min perfundiert, um durch das Insertionstrauma entstandene Metabolite auszuwaschen und einen steady state nach der Gewebeerletzung zu erreichen.

Während dieser Zeit wurden die restlichen Messinstrumente angelegt. Die Blutdruckmessung erfolgte photoplethysmographisch mittels kontinuierlich gemessener Volumenänderung am Mittelglied des Mittelfingers (Finapres™, Ohmeda Monitoring System, Englewood; Colorado, USA) und einem handelsüblichen Blutdruckmessgerät am Oberarm (Welch Allyn™, Skaneateles Falls, NY, USA), mit dem Vergleichsmessungen durchgeführt wurden. Die Blutdruckmessung mittels der Finapres®-Methode wurde in vorhergehenden Studien bereits validiert [74]. Die kontinuierliche Überwachung der Herz- und Atemfrequenz erfolgte über ein Standard 3- Pol EKG und ein Dehnungselement (Pneumotrace® 1130 ADInstruments, Spechbach, Deutschland) welches entweder um die Brust oder den Oberbauch, entsprechend des Ortes der größten Atemexkursion, angelegt wurde. Die Punktion des Nervus peroneus superficialis zur Ableitung der sympathischen Nervenaktivität erfolgte wie in Kapitel 2.4.2 beschrieben.

Zur Aufzeichnung der ermittelten Daten wurde ein Personal Computer mit der Powerlab®-Software (ADInstruments, Spechbach, Deutschland) verwendet. Mit Hilfe der zugehörigen Software konnten die Daten visualisiert und ausgewertet werden. Nach einer 30-minütigen Ruhephase, in der alle Parameter als Ausgangswert bestimmt, und die MSNA in Ruhe (Baseline) aufgezeichnet werden konnte, begann das Experiment mit der Applikation des Nasensprays in beide Nasenlöcher, verteilt über einen Zeitraum von ca. 10 min.

Die Mikrodialyse Vials (Auffanggefäße) wurden in 15-minütigen Abständen gewechselt und die Blutentnahmen erfolgten alle 30 min über die Venenverweilkanüle. So konnten insgesamt zehn Mikrodialyse Vials gesammelt und sechs Blutproben entnommen werden.

Nach 2,5h wurde das Experiment mit einer abschließenden pharmakogenen Barorezeptorreflextestung beendet. Verwendet wurde der potente Vasodilatator Nitroprussidnatrium (Nipruss®). In der vorliegenden Studie wurde Nipruss® mit einer Ausgangsmenge von 60 mg in einer dreistufigen Verdünnungsreihe mit 110 ml H₂O auf eine Zielmenge von 100µg/5ml H₂O verdünnt. Diese 100µg wurden über die Venenverweilkanüle appliziert. Eine anschließende 8 -minütige Ruhephase diente der Auswaschung des Nipruss und der gezielten Überwachung von Herzfrequenz und Blutdruck. Nach diesen 8 min erfolgte die Gabe des Imidazolin-Derivates Phenylephrin®. Das Phenylephrin wurde ebenfalls in einer dreistufigen Verdünnungsreihe mit 30 ml 5%-iger Glucoselösung von 10 mg auf eine Zielmenge von 0,15 mg/3,5 ml G5% verdünnt und direkt über die Venenverweilkanüle appliziert. Der experimentelle Versuchsablauf ist in Abbildung 2.1 schematisch dargestellt.

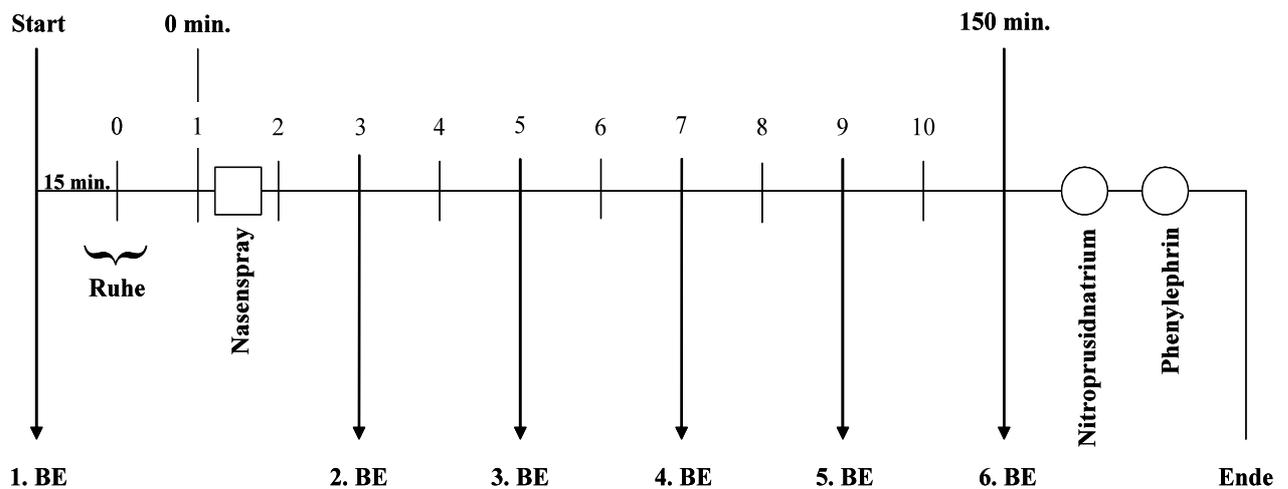


Abb.2.1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus: Blutentnahme (BE), Einlegen der Mikrodialysevials (0-10) mit dem Wechsel nach 15 min, Nasenspray entweder CRH oder Placebo, Nitroprussidnatrium und Phenylephrin i.v. Applikation mit zehnminütigem Abstand.

2.3 Mikrodialyse

Die eingesetzte MD Einheit besteht aus dem MD Katheter (CMA 62, cutoff 20 kDalton), einer Pumpe (CMA Microdialysis, Carnegie Medical, Stockholm, Schweden) die den Katheter mit der Ringerlösung perfundiert und dem Auffangbehälter für das MD Dialysat (Microvial).

Wir applizierten die beiden Katheter mit Hilfe einer Führungsnadel, der erste Katheter wurde in die Streckmuskulatur des linken Unterarmes gelegt, der zweite in das abdominale, subkutane Fettgewebe der Probanden. Die beiden Pumpen wurden unverzüglich an die Katheter angeschlossen, um eine Auswaschungs- und Equilibrierungsphase von ca. 30 min zu ermöglichen. Die Flussrate betrug 1 $\mu\text{l}/\text{min}$, so dass wir pro Vial 15 μl Dialysat erhielten. Bei der Messung von Substanzkonzentrationen im Dialysat ist zu beachten, dass sich nur ein bestimmter Anteil der im Interstitium vorliegenden Konzentration an Stoffen wieder finden lässt (Recovery).

Die Recovery ist abhängig von der Membranporengröße, der Membranlänge, der Perfusionsgeschwindigkeit des Perfusats und der Durchblutung des zu untersuchenden Gewebes. Sollen quantitative Konzentrationsbestimmungen vorgenommen werden, so muss zuvor eine Kalibrierung erfolgen. Eine gängige Methode der Kalibrierung wurde von Lonnroth beschrieben [48] und ist insbesondere für selbst konstruierte Dialysemembranen notwendig. Die von uns verwendeten kommerziellen Mikrodialysekatheter weisen bei einem Perfusionsfluss von 0,3 $\mu\text{l}/\text{min}$ eine Recovery von nahezu 100% auf. Das für eine Analyse benötigte Dialysatvolumen beträgt mindestens 9 μl . Unter einem Fluss von 0,3 $\mu\text{l}/\text{min}$ wäre eine Messung der Metaboliten nur alle 30 Minuten möglich gewesen.

Ziel der Versuche war jedoch eine kurzfristige Veränderungen der Metabolite im Fettgewebe zu messen, deshalb entschieden wir uns, den Dialysatfluss auf Kosten einer 100%igen Recovery auf 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ zu erhöhen. Hierdurch war eine Metabolitenbestimmung im Dialysat alle 15 Minuten möglich. Da die Konzentrationen im Dialysat unter den gegebenen Umständen aber nicht mehr denen im Interstitium entsprachen, stellten wir Konzentrationsveränderung als relative Veränderungen im Vergleich zu einem Basalwert dar. Bei einem konstanten - wenn auch hohem - Dialysatfluss kann trotzdem von einem konstant bleibenden Stoffaustausch über der Membran ausgegangen werden [48, 50].

Das Mikrodialysat wurde unmittelbar nach Ende des Versuches bei -30°C tiefgefroren. Aus den Mikrodialyseproben wurden mit Hilfe des CMA 600 Mikrodialysis Analyzers

(CMA600/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden) die Konzentrationen von Glycerol, Glucose, Laktat und Pyruvat in den Proben bestimmt. Die Analyse basiert auf einer photometrischen Absorptionsmessung nach vorheriger enzymatischer Oxidation. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 0.1 mmol/l für Glukose und Laktat sowie 0.01 mmol/l für Glycerol.

2.4 Mikroneurographie

2.4.1 Allgemeine und Technische Grundlagen

Zur Ableitung des Signals werden isolierte Wolframdrähte mit einem Durchmesser von 0,2 mm verwendet. Die zwischen 1 und 15 μm messenden Spitzen dieser Elektroden werden zur Isolierung mit Epoxidharz überzogen (Voltalac 435). Beim Einführen der Elektrode wird der Isolationslack zurück geschoben und gibt die Spitze frei. Die Impedanz einer Elektrode beträgt 20-100 k Ω . Elektroden mit einer geringeren Impedanz werden als Referenzelektroden verwendet. Die über die Elektroden abgeleiteten Entladungen postganglionärer sympathischer Nervenfasern werden durch ein Verstärkersystem mit einer 50.000 – fachen Verstärkung aufbereitet. Durch Bandpassfilterung (700-2000 Hz) wird das Signal aus dem Hintergrundrauschen extrahiert. Nach Aufbereitung durch eine resistance-capacity Einheit (Rc-network) mit einer Zeitkonstante von 0,1 s erfolgte die Darstellung des sympathischen Summenpotentials als mittlere Spannungsschwankung. So können Summenpotentiale mehrerer sympathischer C-Fasern akustisch und visuell als burst (Ausschlag) dargestellt werden. Diese Signale wurden simultan mit EKG, Blutdruck- und Atmungskurve mit einer Abtastgeschwindigkeit von 200 Hz digitalisiert (CED, Electronic Design 1401 plus, Science Park, Cambridge, England) und gespeichert.

2.4.2 Mikroneurographische Ableitung

Vor der Punktion des N. peroneus superficialis wird eine Referenzelektrode ca. 5 cm von der erwarteten Punktionsstelle entfernt in die Subkutis eingebracht. Der Verlauf des N. peroneus superficialis wurde durch eine transkutane, elektrische Stimulation (Model S48 Stimulator, Grass Instrument Company, Quincy, USA und Model SIU 8 Stimulus Isolation Unit, Grass Instrument Company, Warwick, USA) unterhalb des Fibulaköpfchens aufgesucht und mit einem wasserfesten Stift markiert. Die dafür benötigte Spannung beträgt ca. 30-70 Volt, bei einer Reizdauer von 0.01 ms und einer Stimulationsfrequenz von 1 Hz.

Im nächsten Schritt wird die Ableitelektrode unter gleichzeitiger Stimulation mit einer Spannung von 3 bis 4,5 Volt, einer Frequenz von 1 Hz und einer Reizdauer von 0,01ms in Richtung des markierten Nerven vorgeschoben. Die unwillkürlichen Muskelkontraktionen des M. tibialis anterior (Zehenstrecker) oder der Peronealmuskulatur (Wadenbeinmuskulatur) zeigen ebenso wie die Parästhesien die der Proband evt. verspürt, die korrekte Lage der Elektrode an. Am Punkt der stärksten Reizung wird dann die sympathische Nervenaktivität abgeleitet. Häufig sind kleinere Korrekturen der Elektrodenplatzierung vorzunehmen, bis das Signal in der gewünschten Intensität abgeleitet werden kann. Die MSNA, die wir in dieser Arbeit abgeleitet haben, ist im Gegensatz zur SSA rhythmisch an den Herzzyklus gekoppelt, durch inspiratorische Apnoe stimulierbar und gegen Erschrecken unempfindlich. Eine Ableitung wurde daher aufgrund folgender Kriterien als qualitativ geeignet angesehen:

1. eine sichere Lage im Nervenfaszikel, die durch die Reizung der Dehnungsrezeptoren bestätigt wurde
2. kein Nachweis von sensorischen Afferenzen bei sorgfältiger Testung durch Streichbewegungen auf der Haut
3. Sympathoexzitation durch inspiratorische Apnoe
4. keine Sympathoexzitation durch Schreckreize
5. ein Verhältnis der Burstamplitude zum Hintergrundrauschen von mindestens 3:1

Nach Auffinden der Ableitungsposition sollten die Probanden möglichst ruhig liegen, da auch geringfügige Dislokationen der Elektrode zu einem Verlust des Signals führen können.

2.4.3 Mikroneurographische Auswertung

Die MSNA-bursts wurden im Computer per Hand markiert und die Software (Chart 5 for Windows) berechnete die burst-Anzahl pro Minute (burst-Frequenz), die Herzfrequenz, die burst-Anzahl pro 100 Herzschläge (burst-Inzidenz) sowie die Blutdruckwerte der ausgewerteten Perioden. Ein burst wurde als solcher akzeptiert, wenn seine Amplitude mindestens das Dreifache des Grundrauschens der Ableitung betrug. Artefakte wurden aufgrund der Anstiegssteilheit des Signals identifiziert und von der Analyse ausgeschlossen. Für die MSNA wurden folgende Perioden ausgewertet: Mit dem Start der Aufzeichnung, die ca. 30 min vor der Applikation des Nasensprays begann, wurde beständig in einem 5 Minuten-Intervall jeweils die letzte Minute ausgezählt. Diese Auszählung erfolgte bis zur Injektion des Nipruss®, dort wurden schon 30 s nach der

Injektion eine Minute lang die bursts ausgezählt, ebenso wurde nach der Injektion des Phenylephrin verfahren.

2.5 Laser Doppler Flowmetrie

Mit Hilfe der LDF wurde sowohl die Mikroperfusion der abdominalen Haut als auch des weißen abdominalen Fettgewebes untersucht. Die erste nadelförmige Sonde (Probe 402[needle probe], Perimed Jarfälla, Schweden) wurde in einem 45° spitzen Winkel, ca. 1 cm neben die Mikrodialylenadel eingebracht, hierbei diente eine kleine Venenverweilkanüle (Venflon™ 0.8/25 mm) als Führungsschiene. Die Sonde wurde mit Leukoplast gut fixiert, um mögliche Bewegungsartefakte zu vermeiden. Die zweite tellerförmige LDF-Sonde für die Messung der Hautdurchblutung (Probe 407-1[small straight probe], Perimed, Järfälla, Schweden) wurde ca. 10 mm von der ersten Sonde entfernt auf der Hautoberfläche befestigt.

2.6 Powerlab

Die gewonnen Daten aus EKG, Pneumobelt®, Finapress®, Mikroneurographie und Laserdopplerflowmetrie wurden mit Hilfe eines PC-gestützten Multifunktionsgerätes, welches eine simultane, analog-digitale Umwandlung und Speicherung biologischer Parameter ermöglicht (Power Lab®, ADInstruments, Heidelberg), aufgezeichnet. Die zugehörige Software (Chart for Windows 5.0, ADInstruments, Heidelberg) ermöglichte eine Visualisierung und Aufzeichnung der Daten.

2.7 Analytik der Blutproben

Die ersten 4 ml jeder Blutentnahme wurden verworfen um eine evt. Verdünnung zu vermeiden. Bei jeder Blutentnahme wurde jeweils ein Serum Röhrchen (S-Monovette® 9 ml Z) zur Bestimmung der freien Fettsäuren, ein EDTA Röhrchen (S-Monovette® 2,7 ml K3E) zur Bestimmung des ACTH und ein Fluorid Röhrchen (S-Monovette® 2,6 ml FE) zur Bestimmung der Glucose-, Glycerol- und der Laktatkonzentration abgenommen. Bei

der ersten, dritten und fünften Blutentnahme wurden zusätzlich noch ein Serum Röhrchen für die Bestimmung von Cortisol, Insulin und Adiponektin und ein EDTA Röhrchen für die Bestimmung der Catecholamine abgenommen. Die entnommene Blutmenge betrug somit ca. 140 ml pro Versuchstag. Die Blutproben wurden sofort nach der Blutentnahme bei 4000 Umdrehungen zehn Minuten lang zentrifugiert (Labofuge 400R, Heraeus Instruments, Hanau) und bis zur Auswertung bei -80°C tiefgefroren. Die freien Fettsäuren wurden mittels enzymatischem Farbttest (Free Fatty Acids, Half micro test, Roche, Mannheim) mit Hilfe eines klinisch-chemischen Analysesystem (Architect c8000, Abbott, Wiesbaden) bestimmt. Die Plasma- bzw. Serumkonzentrationen der aufgeführten Parameter wurden z.T. nach Vorbehandlung, mit kommerziell erhältlichen Assays quantifiziert.

2.8 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des kommerziell erhältlichen Programms GraphPad Prism (*La Jolla, Californien, USA*). Die Signifikanzen wurden mittels Mann-Whitney Test berechnet, unter der Annahme einer nicht normal verteilten Stichprobe. Alle Daten werden als Mittelwerte \pm SEM (standard error of the mean) angegeben. Ein nach Holm-Sidak korrigierter p-Wert von < 0.05 wurde als Signifikanzgrenze angesetzt. Für die Darstellung der Ergebnisse wurden die Metabolitkonzentrationen auf die Phase vor der CRH Gabe normalisiert.

3. Ergebnisse

3.1 Gewebepfusion

3.1.1 Hautperfusion

Die Perfusionsmessung der Haut, die mittels LDF bestimmt wurde, zeigte einen variablen Verlauf mit ähnlichem, nichtsignifikantem Niveau in Placebo und CRH-Gruppe unabhängig von CRH-Gabe und späterer Nitroprussid- und Phenylephrin-Gabe.

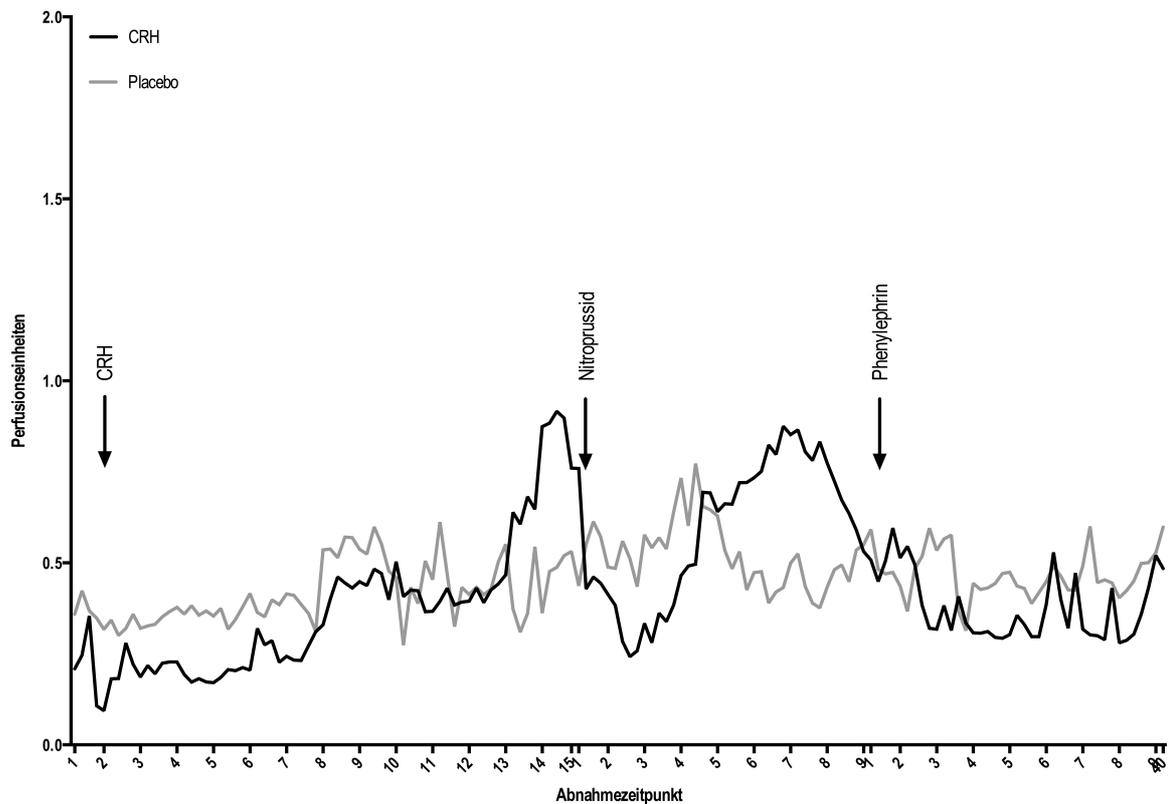


Abb. 3.1.1: Hautperfusion vor und nach Verum-/Placebo-Gabe. (Mittelwerte \pm SEM, n =10). Die dokumentierte Baseline-Zeit beträgt 5 Minuten. Die Abnahmezeitpunkte im Bereich der CRH-Gabe entsprechen 5-minütigen Abständen. Die Abnahmezeitpunkte während der Nitroprussid und Phenylephringabe entsprechen 12 s Intervallen mit einer Messung über je 8 Minuten.

3.1.2 Subkutane Perfusion

Im Fettgewebe zeigte sich 5 Minuten nach intranasaler CRH-Gabe eine signifikante Erhöhung der Durchblutung in der CRH-Gruppe ($p=0,02$). Diese hielt für 25 Minuten an. Auf Grund der hohen Standardabweichung bei geringer Stichprobengröße zeigte sich nach Korrektur für multiples Testen kein signifikanter Unterschied (s. Abbildung 3.1.2).

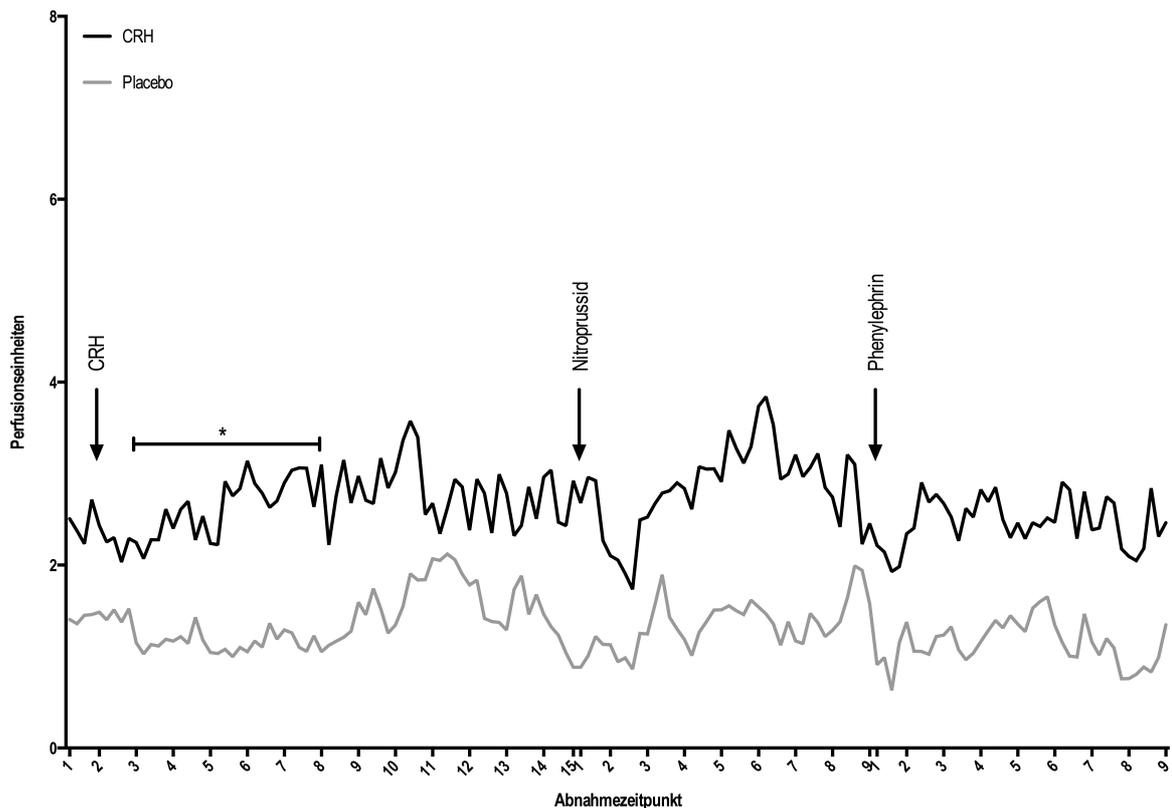


Abb. 3.1.2: Fettgewebsperfusion vor und nach Verum-/Placebo-Gabe. (Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$, $*=p=0,02$). Die dokumentierte Baseline beträgt 5 Minuten. Die Abnahmezeitpunkte im Bereich der CRH-Gabe entsprechen 5-minütigen Abständen. Die Abnahmezeitpunkte während der Nitroprussid und Phenylephringabe entsprechen 12 s Intervallen mit einer Messung über je 8 Minuten.

3.2 Interstitielle Metabolitkonzentrationen

Die aus dem Mikrodialysat bestimmten interstitiellen Konzentrationen der Metabolite Glycerol, Laktat, Pyruvat und Glukose in der Muskulatur des linken Unterarmes und im abdominalen subkutanen Fettgewebe entsprachen durch die hohe Flussgeschwindigkeit des Dialysats, die nur eine unvollständige Recovery erlaubte, nicht den tatsächlichen interstitiellen Gewebekonzentrationen. Dies war für die Fragestellung in unserem Experiment auch nicht erforderlich. Bei einem konstanten - wenn auch hohem - Dialysatfluss kann trotzdem von einem konstant bleibenden Stoffaustausch über der

Membran ausgegangen werden. Für die Untersuchung des CRH-Effektes normalisierten wir die gewonnenen Metabolitenkonzentrationen auf die baseline-Werte vor CRH-Gabe.

3.2.1 Glukose

Im Fettgewebe zeigt sich nach der CRH-Gabe eine deutlich erniedrigte Glukosekonzentration, jedoch ohne Signifikanz (s. Abbildung 3.2.1).

Im Muskelgewebe zeigt sich nach CRH-Applikation ebenfalls eine erniedrigte Glukosekonzentration gegenüber der Placebogabe. Diese ist ebenfalls nicht signifikant (s. Abbildung 3.2.2).

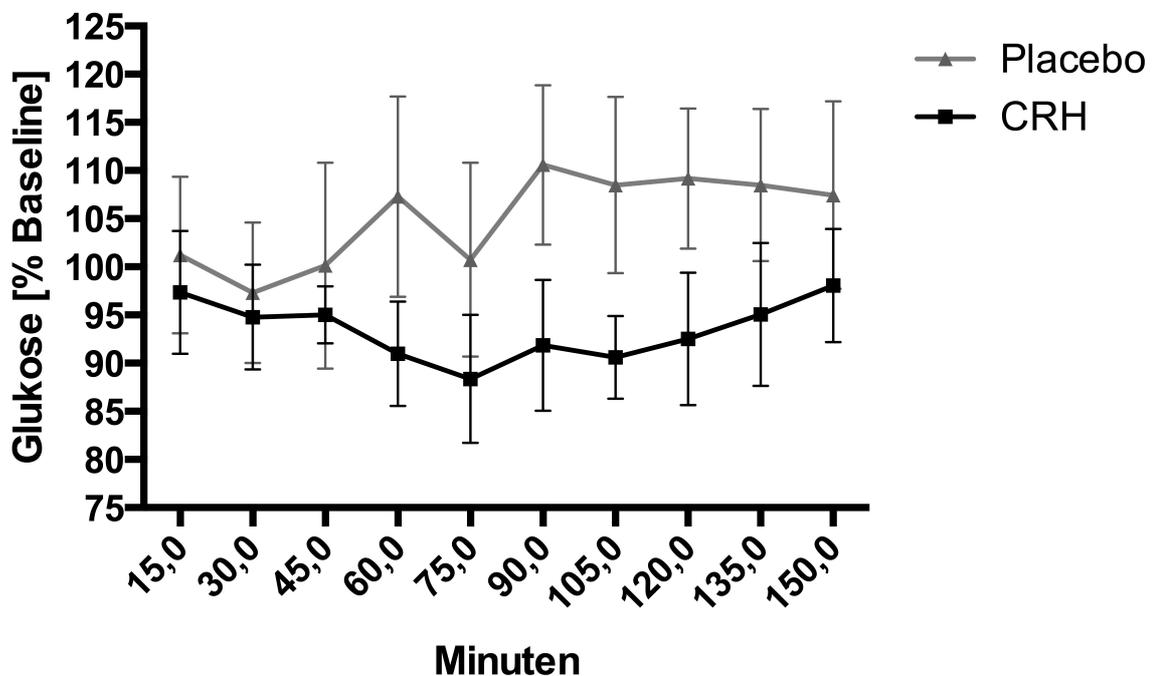


Abb. 3.2.1: Glukosekonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im subkutanen Fettgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

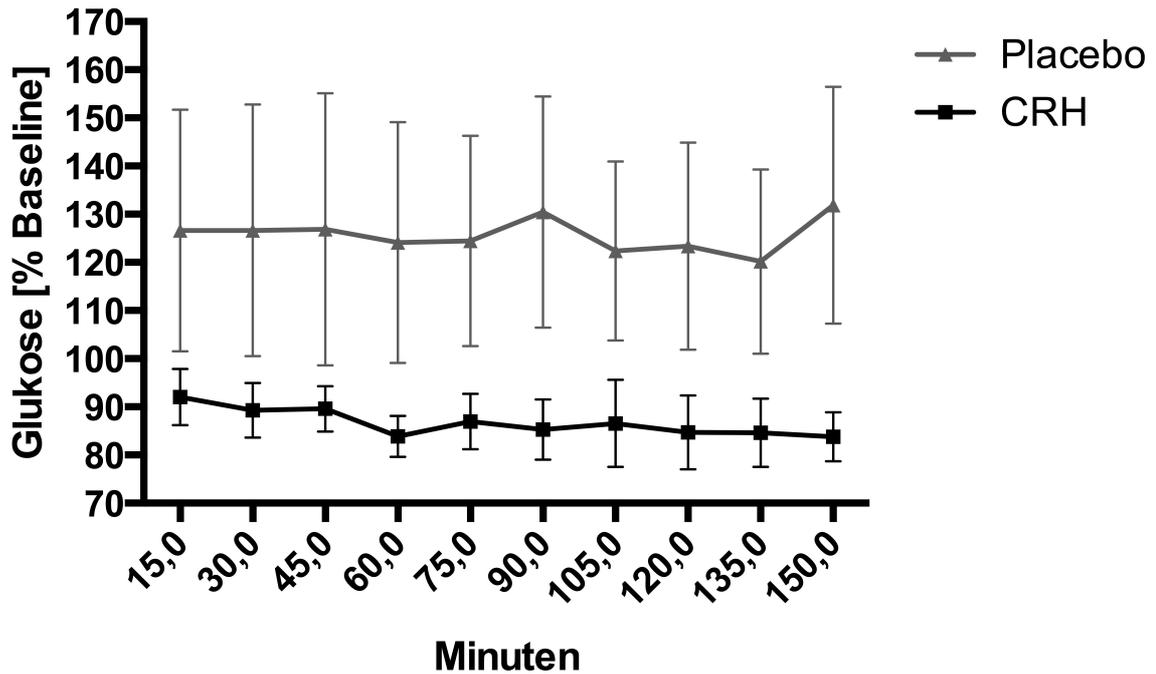


Abb. 3.2.2: Glukosekonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im Muskelgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.2.2 Laktat

Weder im subkutanen Fett- noch im Muskelgewebe führte die CRH-Gabe zu einer signifikanten Änderung der Laktatkonzentration (s. Abbildungen 3.2.3 und 3.2.4).

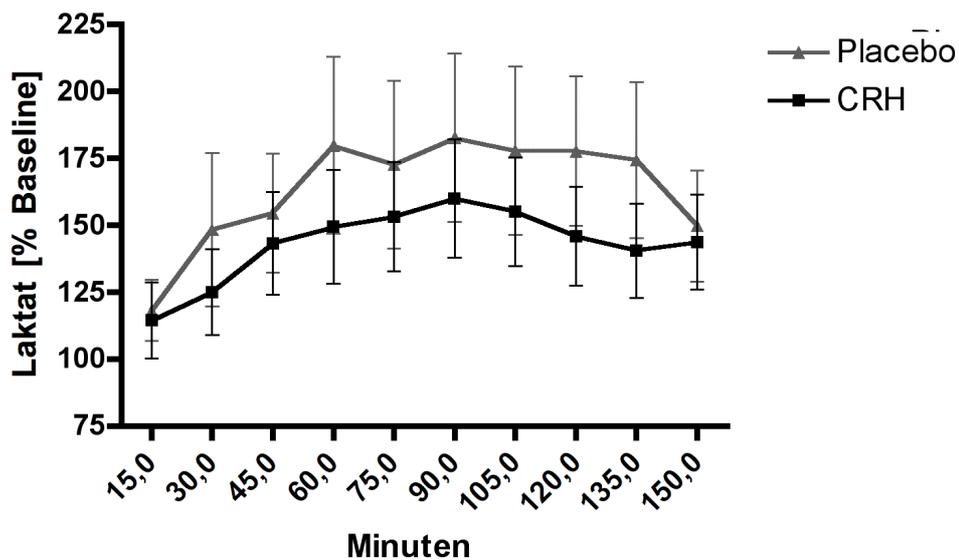


Abb. 3.2.3: Laktatkonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im subkutanen Fettgewebe nach CRH/Placebo-Gabe in (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

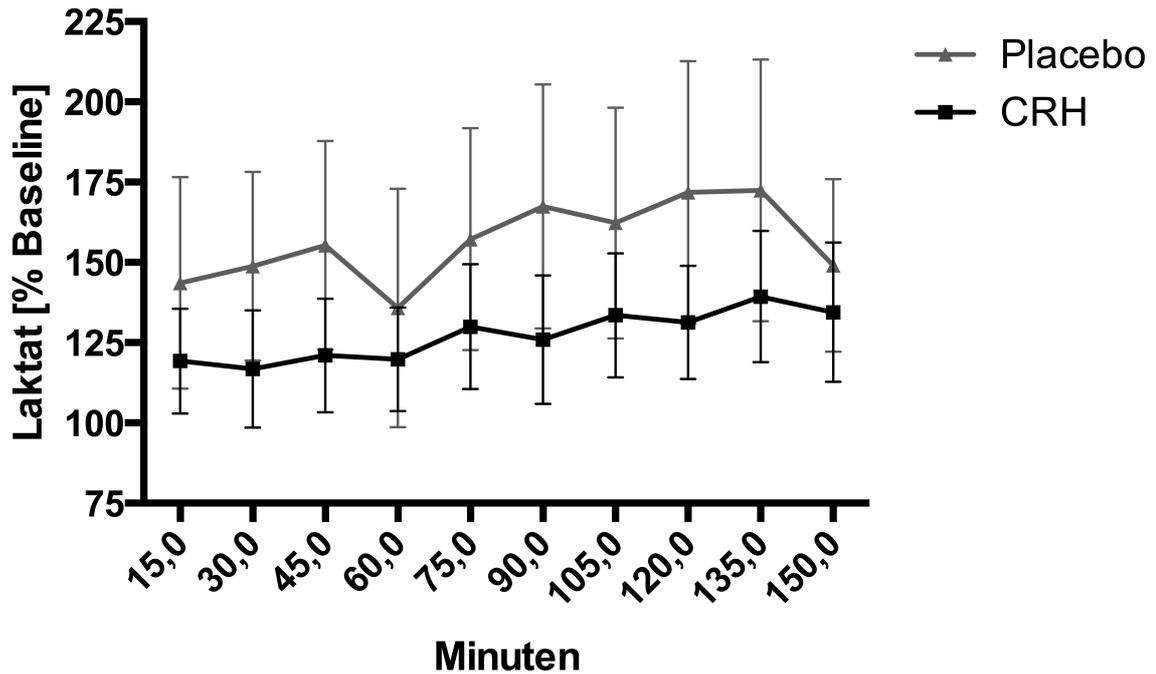


Abb. 3.2.4: Laktatkonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im Muskelgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.2.3 Glycerol

Im Fettgewebe steigt die Glycerolkonzentration nach der Applikation von CRH kontinuierlich an, es zeigt sich jedoch gegenüber der Placebo-Applikation kein signifikanter Unterschied (s. Abbildung 3.2.5). Im Muskelgewebe fällt die Glycerolkonzentration in beiden Fällen zunächst stark ab und steigt im Verlauf nur langsam wieder an. Auch hier zeigt sich kein signifikanter Unterschied (s. Abbildung 3.2.6).

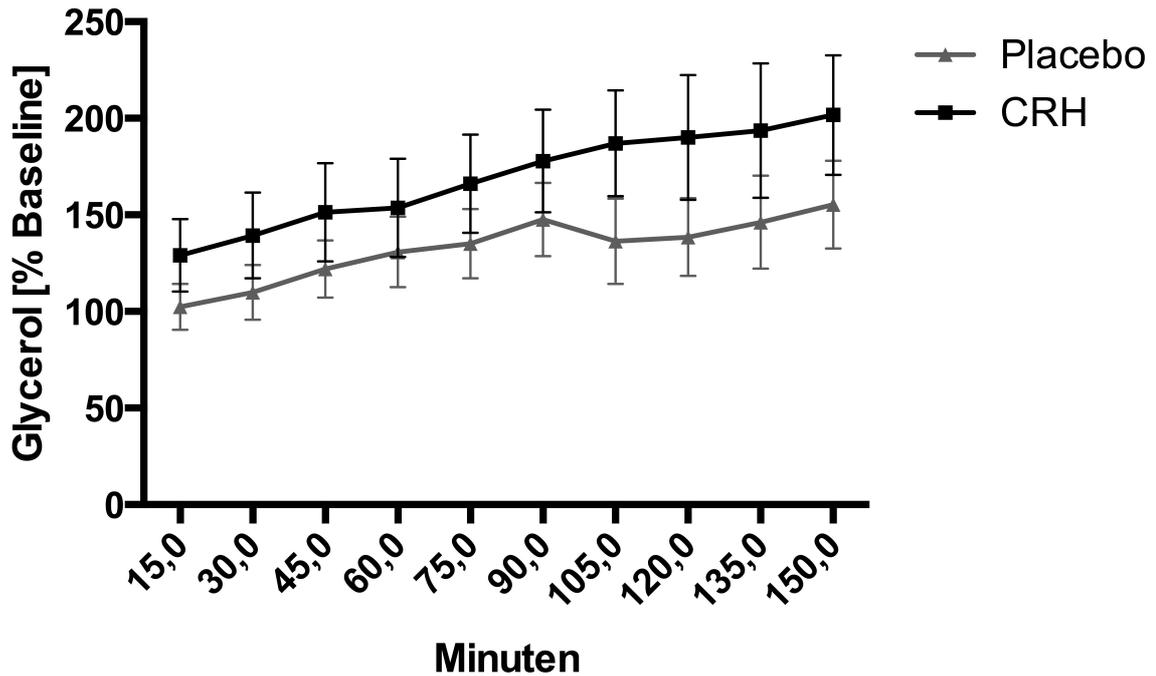


Abb. 3.2.5: Glycerolkonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im subkutanen Fettgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

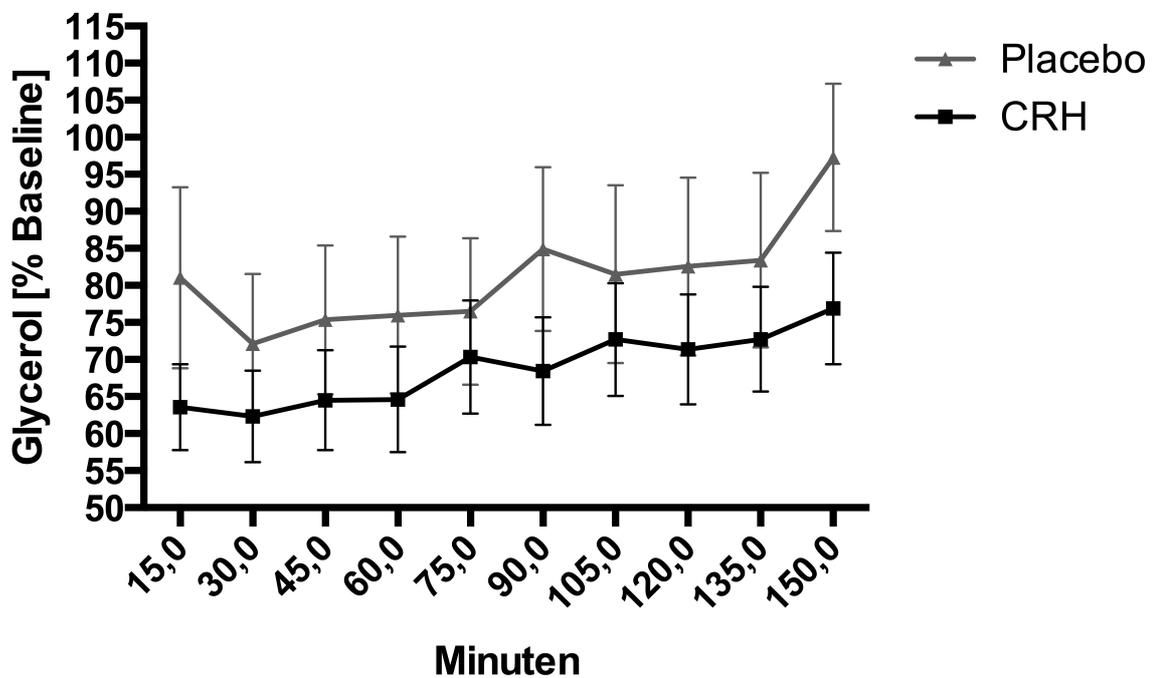


Abb. 3.2.6: Glycerolkonzentrationen in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im Muskelgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.2.4 Pyruvat

Weder im subkutanen Fett- noch im Muskelgewebe führte die CRH-Gabe zu einer signifikanten Änderung der Pyruvatkonzentration (s. Abbildungen 3.2.7 und 3.2.8). Die Pyruvatkonzentration steigt kontinuierlich an, die beiden Kurven laufen jedoch konstant parallel.

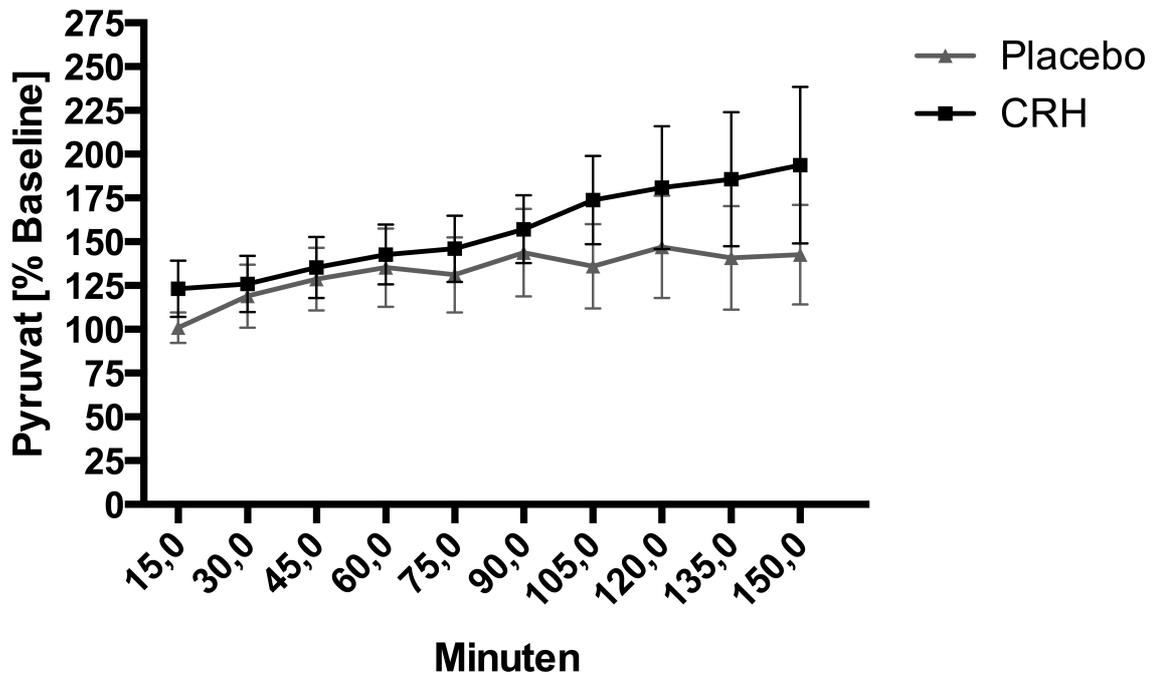


Abb. 3.2.7: Pyruvatkonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im subkutanen Fettgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n=10).

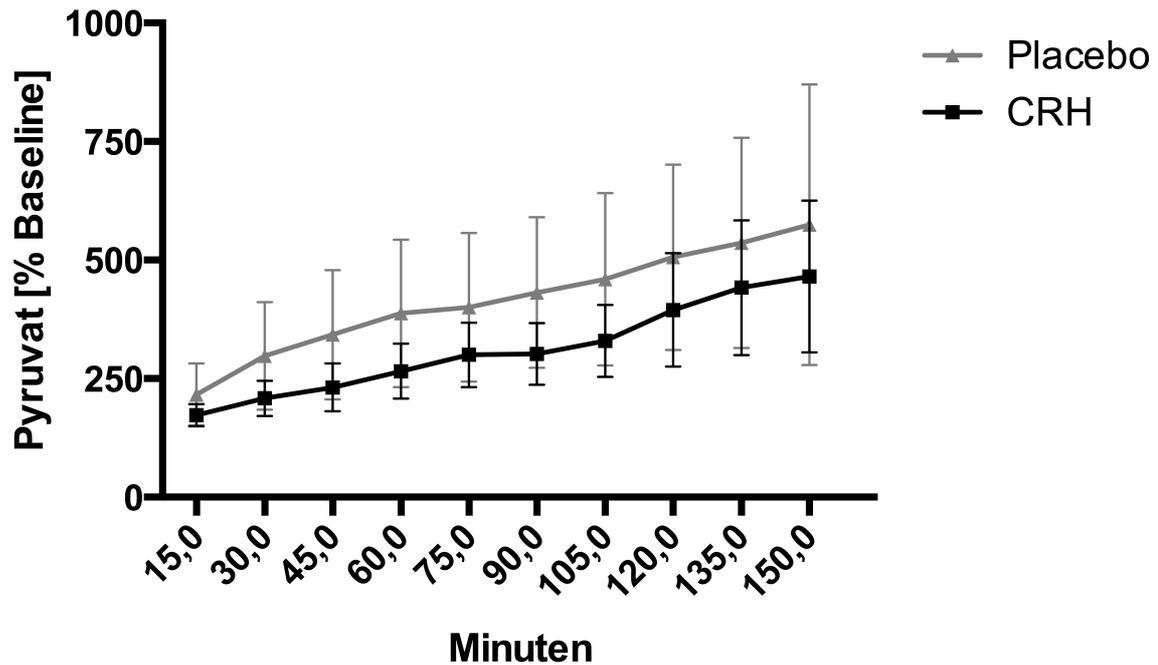


Abb. 3.2.8: Pyruvatkonzentration in Prozent der Baseline (Werte vor Applikation von CRH/Placebo) im Muskelgewebe nach CRH/Placebo-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.3 Sympathische Nervenaktivität

Die Ableitung der sympathischen Nervenaktivität gestaltete sich schwierig. Ausgewertet wurden die Ableitungen von 8 Probanden in denen ein konstantes Signal abgeleitet werden konnte. Bei 2 Probanden kam es nach anfänglich guten Ableitungen zu einer Abschwächung des Signals bzw. zu einer Elektrodendislokation.

Die Nervenaktivität zeigte sich im Verlauf auf gleichbleibendem Niveau, ohne signifikante Erhöhung durch CRH-Applikation. Durch die Applikation von Nitroprussid-Natrium kam es zu einer Erhöhung der Nervenaktivität in beiden Gruppen. Hierbei zeigte sich die Aktivität in der CRH-Gruppe jedoch deutlich höher (Mittelwert, $p < 0,001$), als in der Placebo-Gruppe (Mittelwert, $p < 0,02$). Dieser Unterschied erreichte jedoch kein Signifikanz-Niveau (s. Abbildung 3.3).

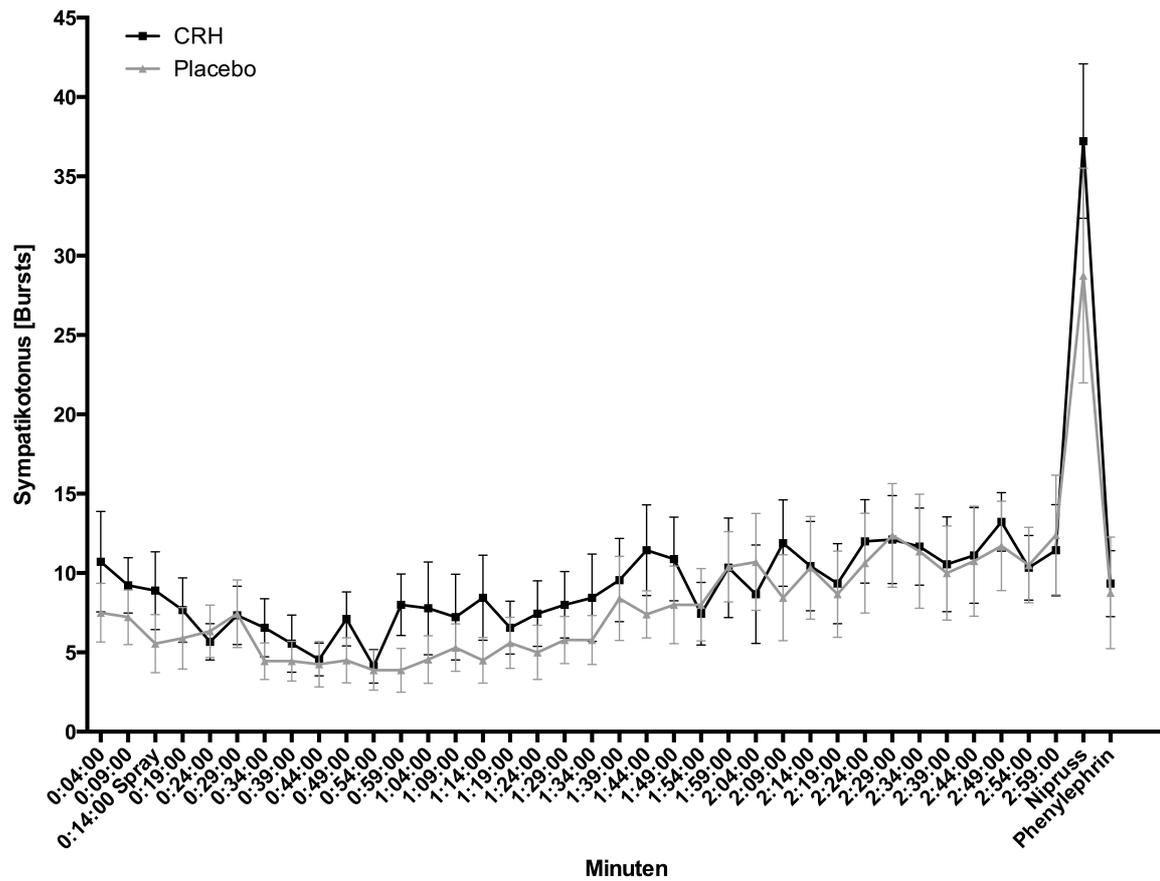


Abb. 3.3: MSNA dargestellt als Burstfrequenz (bursts/min) vor und nach Injektion von Placebo oder CRH, sowie nach der Applikation von Nitroprussidnatrium und Phenylephrin (Mittelwerte \pm SEM, n =8).

3.4 Plasma- und Serumkonzentrationen

3.4.1 Cortisol im Serum

Der Plasma-Cortisol-Spiegel der Baseline vor CRH-Gabe ist in der Gruppe die anschließend CRH erhalten hat signifikant erhöht ($17,39 \pm 2.84$, $p < 0.05$). Die Serum-Cortisol-Spiegel unterschieden sich nach CRH-Applikation jedoch nicht mehr signifikant (s. Abbildung 3.4.1).

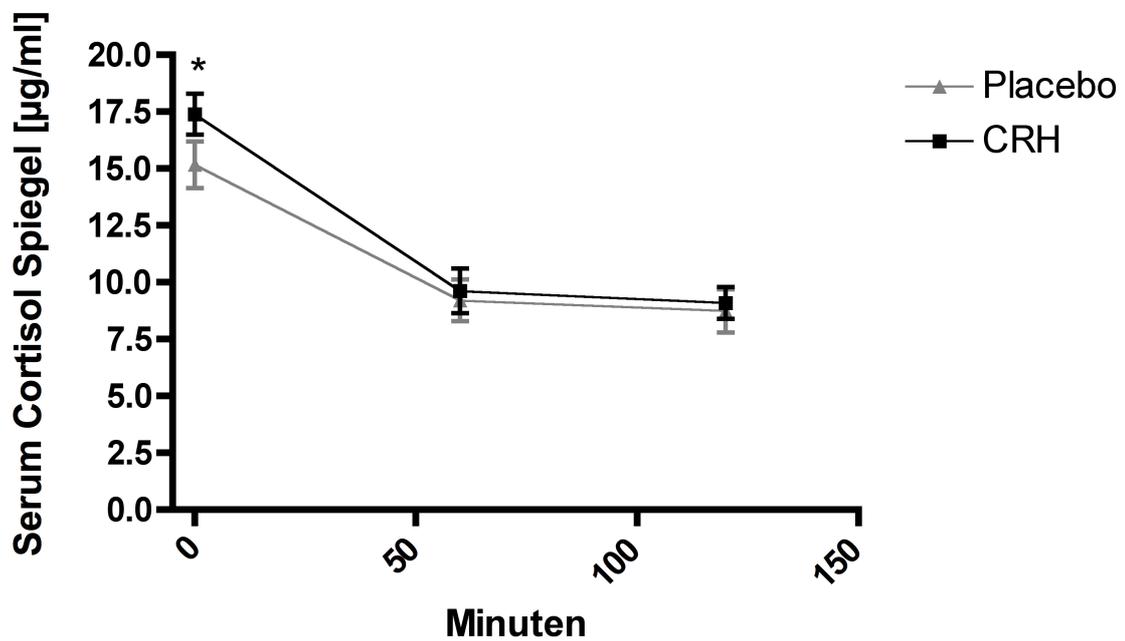


Abb. 3.4.1: Serum-Cortisol-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe. (* $p < 0.05$, Mittelwerte \pm SEM, $n = 10$).

3.4.2 ACTH im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-ACTH-Spiegel (s. Abbildung 3.4.2).

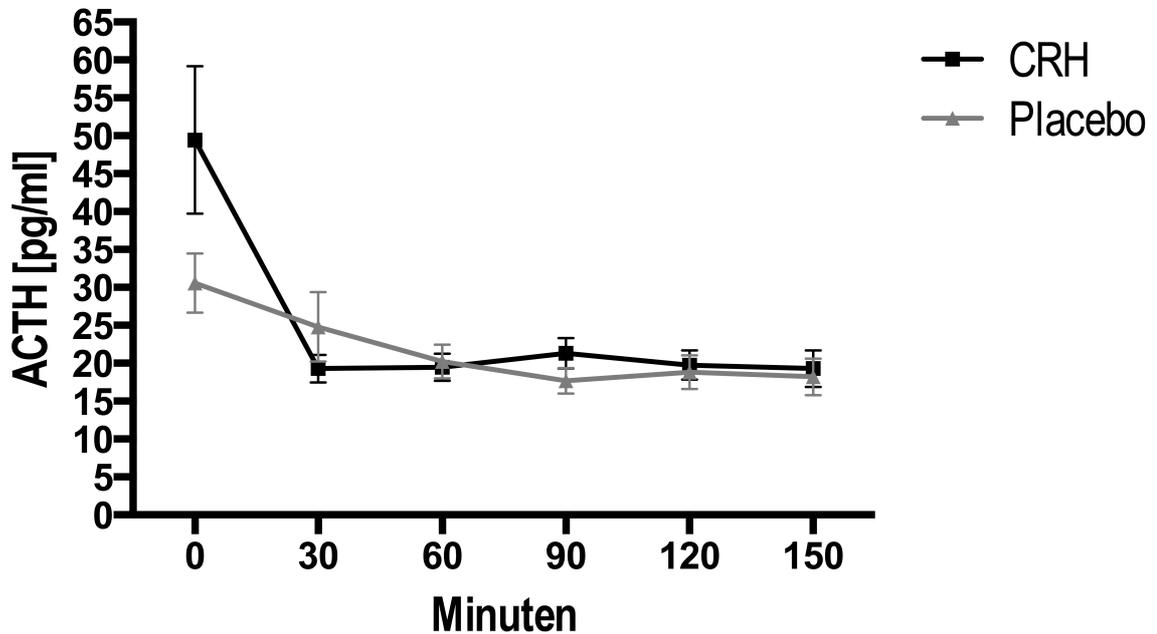


Abb. 3.4.2: Serum-ACTH-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe. (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.3 Glukose im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Glukose-Spiegel (s. Abbildung 3.4.3).

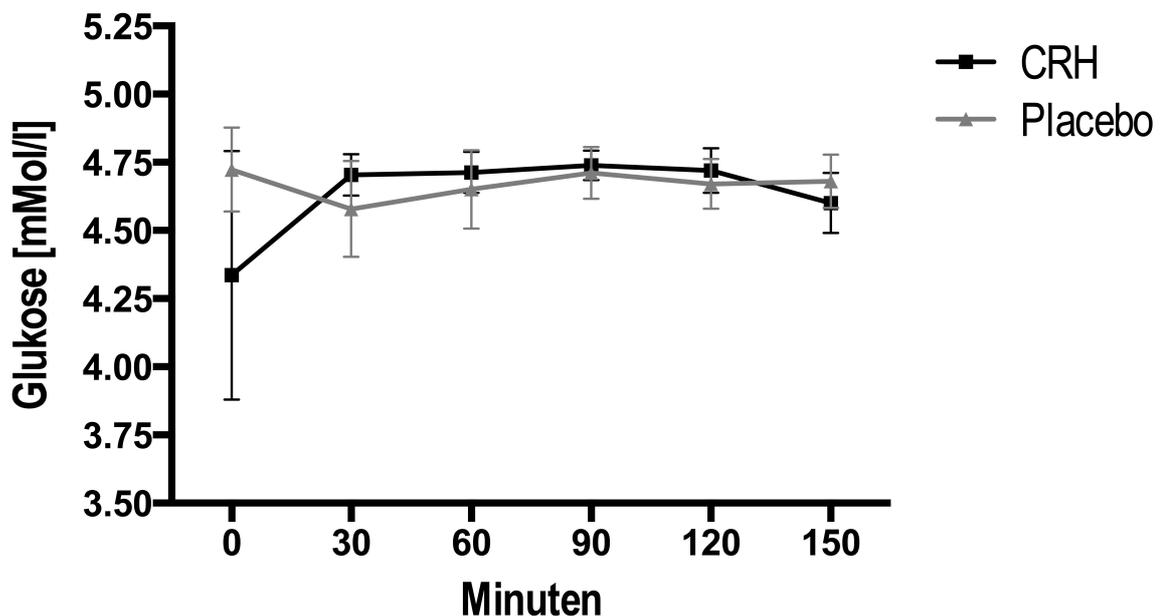


Abb. 3.4.3: Serum-Glukose-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.4 Laktat im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Laktat-Spiegel (s. Abbildung 3.4.4).

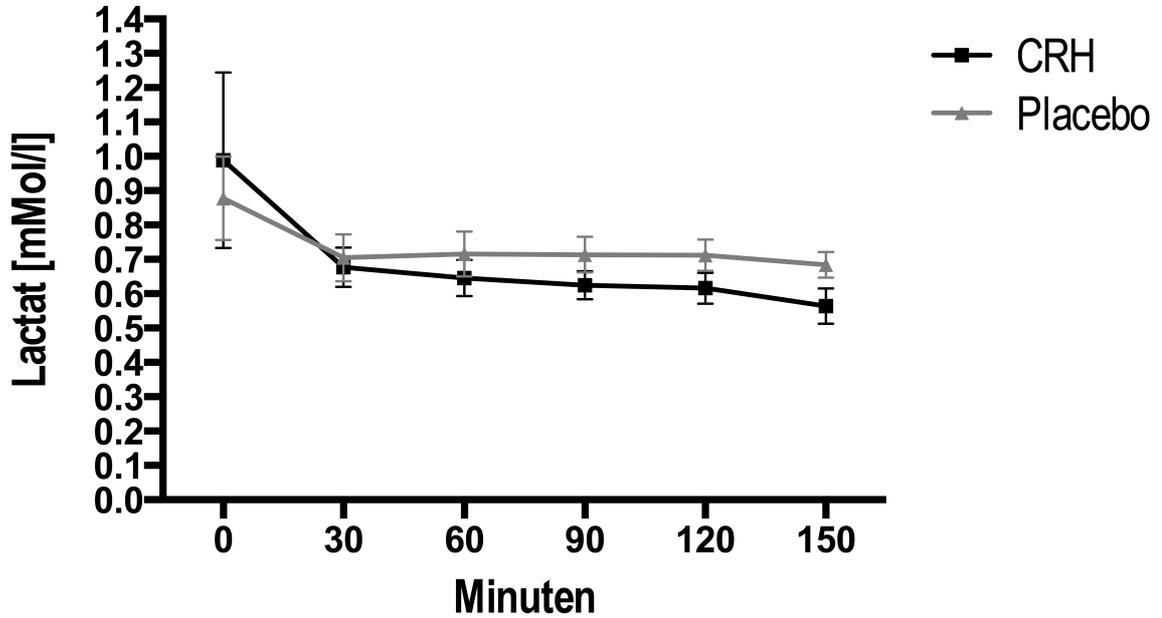


Abb. 3.4.4: Serum-Laktat-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.5 Glycerol im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Glycerol-Spiegel (s. Abbildung 3.4.5).

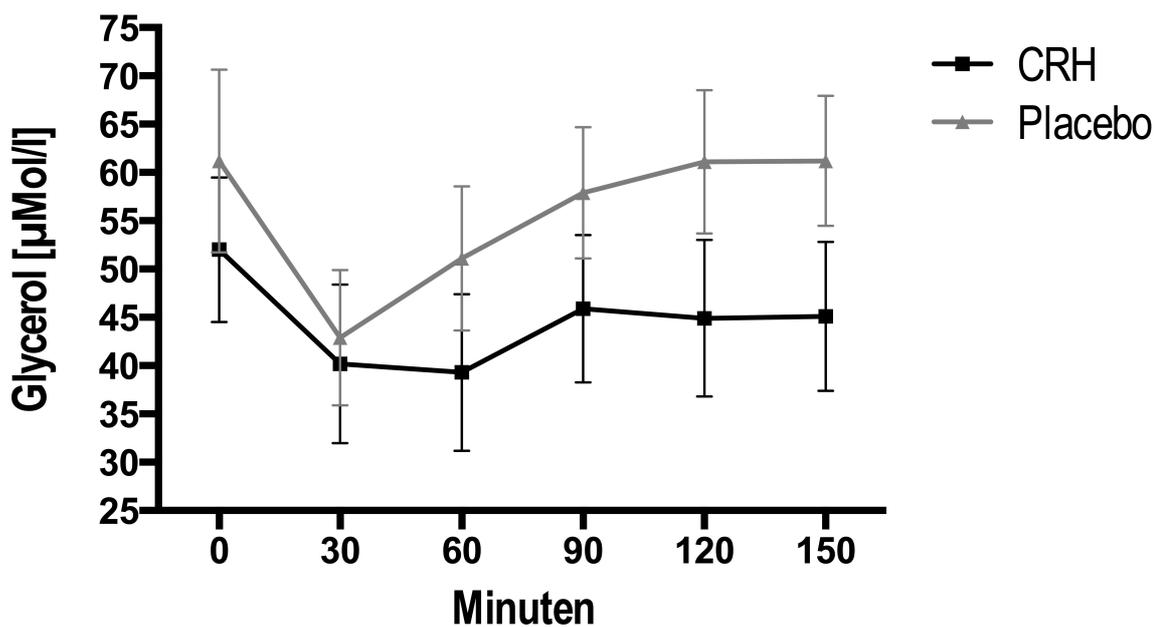


Abb. 3.4.5: Serum-Glycerol-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.6 Adrenalin im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Adrenalin-Spiegel (s. Abbildung 3.4.6).

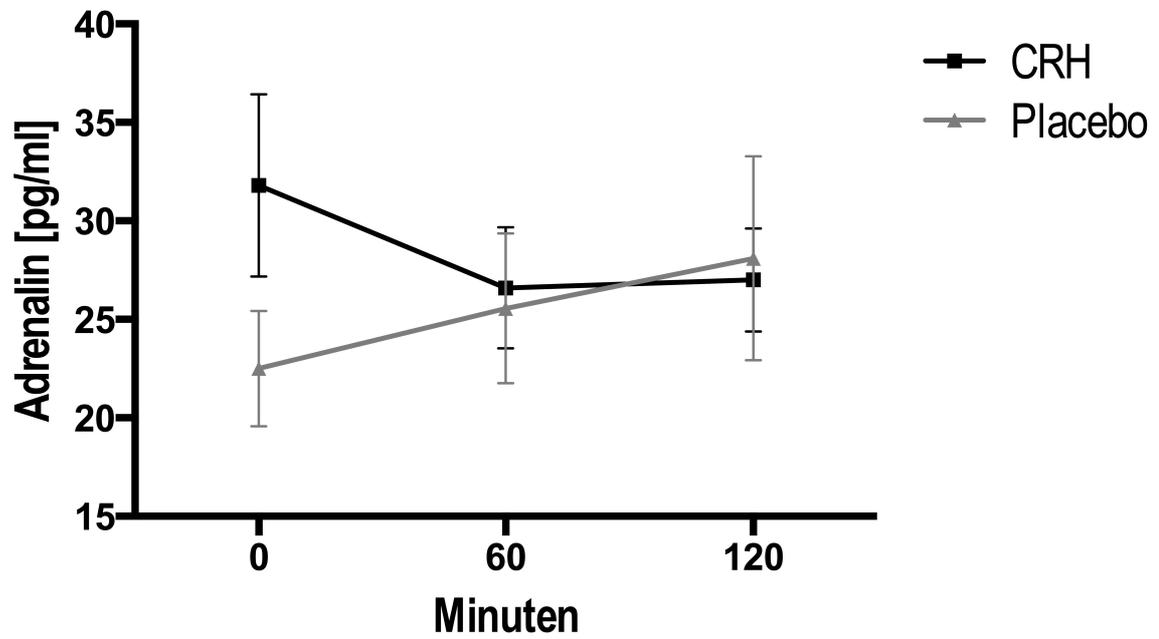


Abb. 3.4.6: Serum-Adrenalin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.7 Noradrenalin im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Noradrenalin-Spiegel (s. Abbildung 3.4.7).

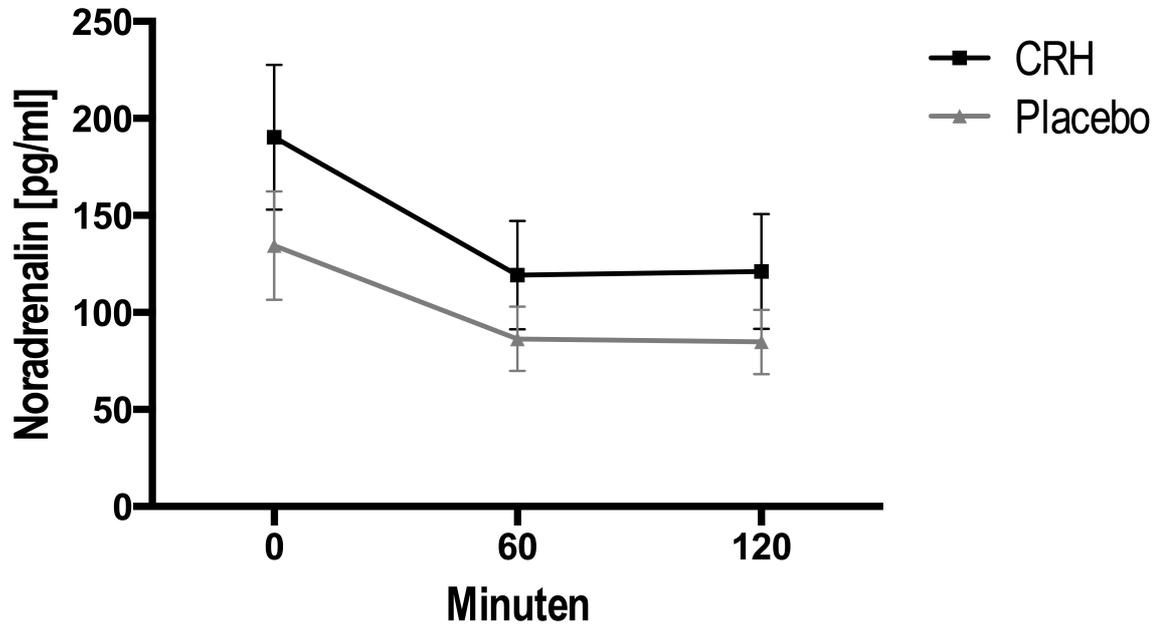


Abb. 3.4.7: Serum-Noradrenalin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.8 Freie Fettsäuren im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Spiegel der freien Fettsäuren (s. Abbildung 3.4.8).

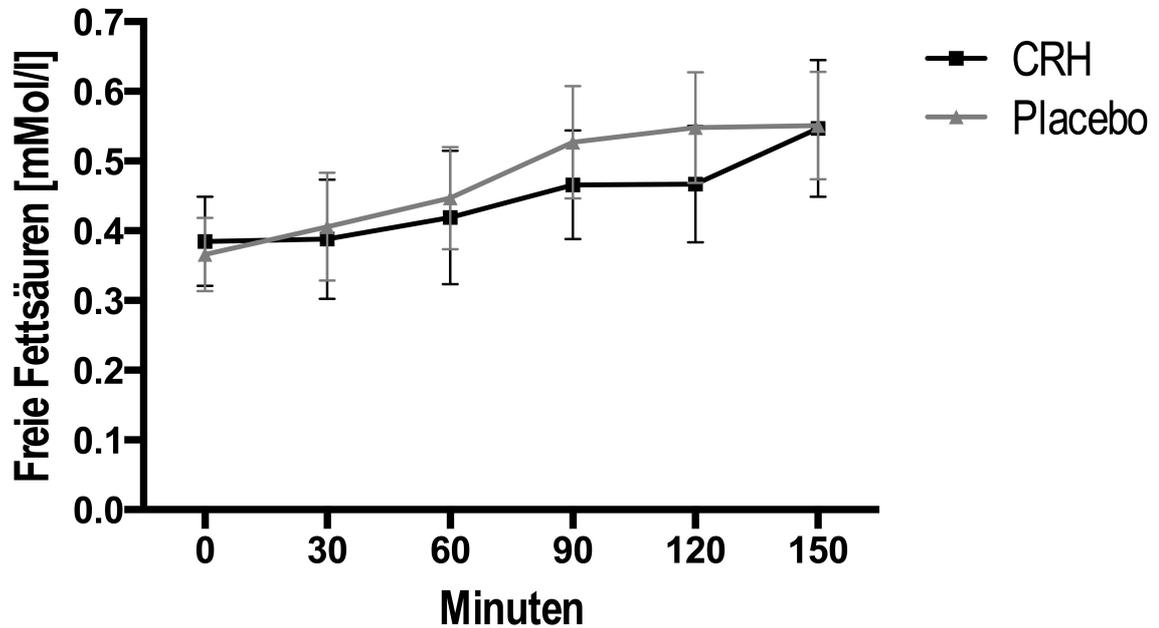


Abb. 3.4.8: Serum-Spiegel der freien Fettsäuren vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.9 Insulin im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Insulin-Spiegel (s. Abbildung 3.4.9).

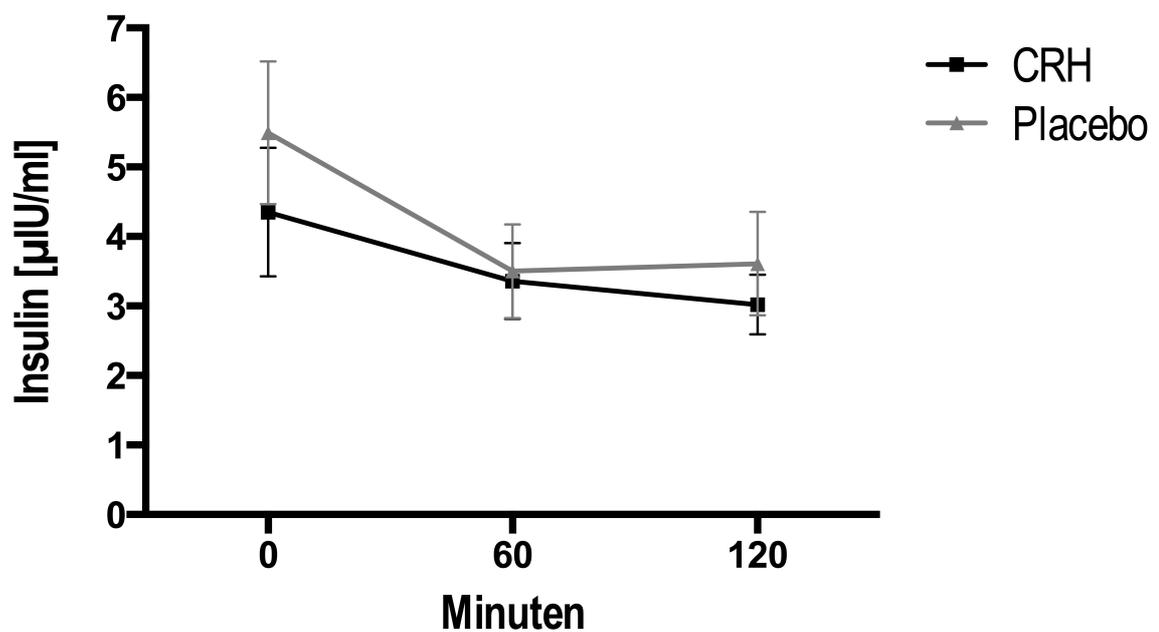


Abb. 3.4.9: Serum-Insulin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.10 Adiponektin im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Adiponektin-Spiegel (s. Abbildung 3.4.10).

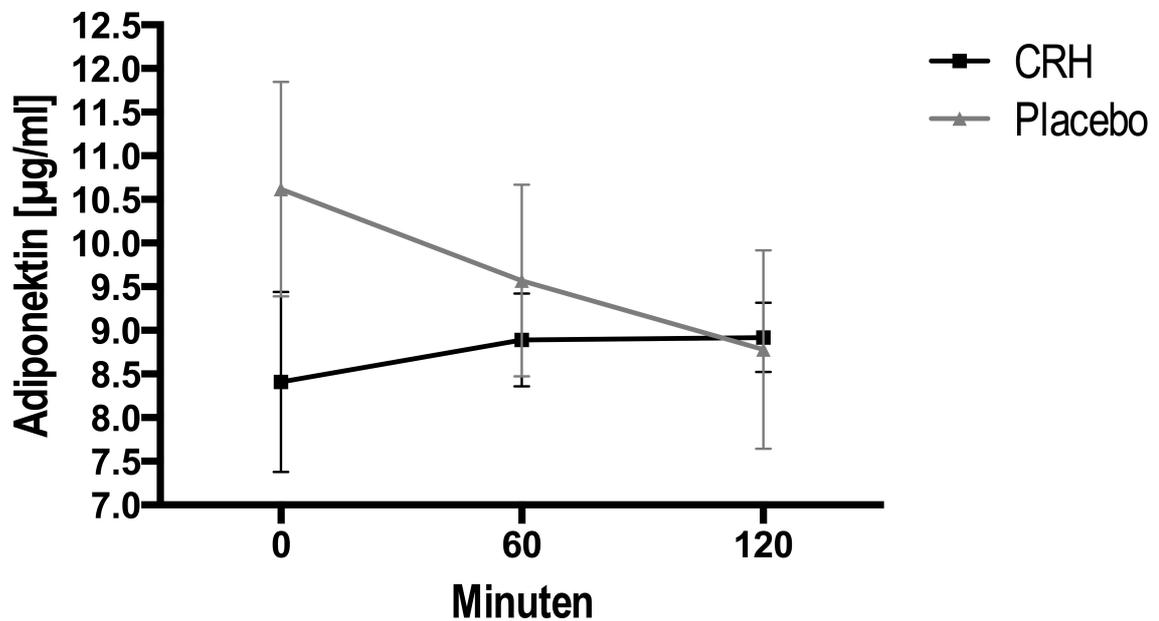


Abb. 3.4.10: Serum-Adiponektin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.4.11 Pyruvat im Serum

Weder die CRH- noch die Placebo-Gabe führte zu einer signifikanten Änderung der Serum-Pyruvat-Spiegel (s. Abbildung 3.4.11).

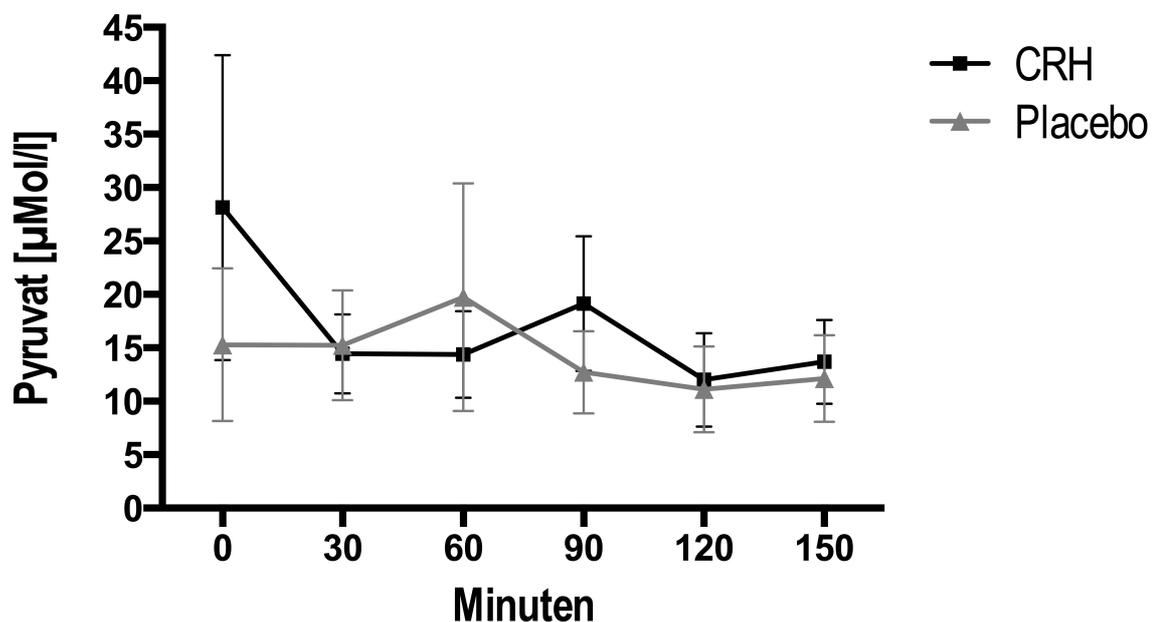


Abb. 3.4.11: Serum-Pyruvat-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n =10).

3.5 Vitalparameter

3.5.1 Herzfrequenz

Die Herzfrequenz zeigte einen variablen Verlauf mit ähnlichem, nichtsignifikantem Niveau in Placebo und CRH-Gruppe unabhängig von CRH-Gabe. Nach Nitroprussid-Gabe zeigte sich eine stärkere Erhöhung der Herzfrequenz in der CRH-Gruppe. Dieser Unterschied erreichte jedoch kein Signifikanz-Niveau. Die spätere Phenylephrin-Gabe zeigte keinen Unterschied zwischen CRH und Placebo (s. Abbildung 3.5.1).

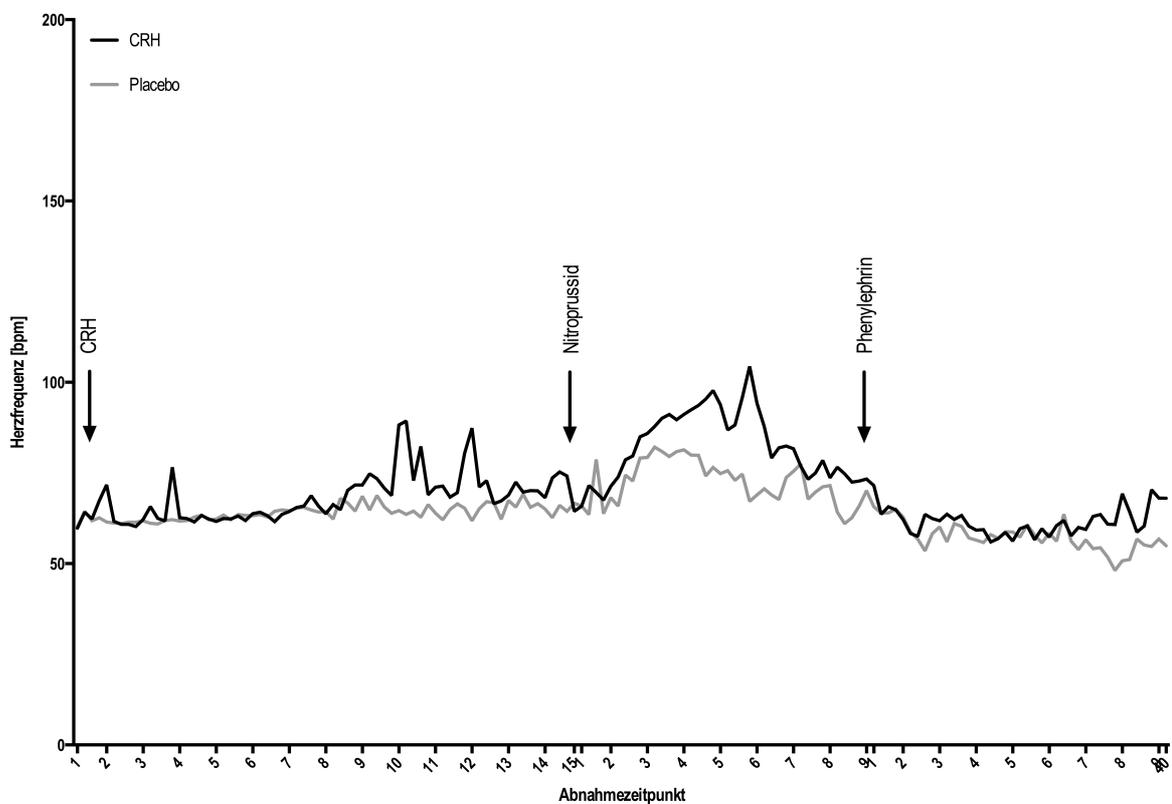


Abb. 3.5.1: Herzfrequenz vor und nach Placebo-/CRH-Gabe (Mittelwerte \pm SEM, n=10).

3.5.2 Blutdruck

Die permanente Blutdruckmessung gestaltete sich schwierig. Die Messungen zeigten starke Schwankung und Ungenauigkeiten, so dass die Auswertung der Blutdruckmessung aufgrund der zu großen Messungenauigkeit aus der Auswertung ausgenommen werden musste. Eine Auswertung und Interpretation der Blutdruckparameter konnte somit nicht erfolgen.

4. Diskussion

In der Regulation des Körpergewichtes interagieren viele extrinsische und intrinsische Faktoren und bilden ein komplexes, bisher lediglich in den Anfängen verstandenes System. Im Rahmen der Regulation des Energiehaushaltes wird CRH eine zentrale Rolle zugeschrieben. In vorherigen Studien konnte am Menschen erstmalig beobachtet werden, dass intravenös appliziertes CRH ein signifikantes lokales lipolytisches Potential besitzt [11]. In Tierversuchen ist zur Überwindung der Bluthirnschranke die intracerebroventrikuläre Applikation von Substanzen und Medikamenten weit verbreitet. Beim Menschen ist die intranasale Applikation eine elegante alternative Methode die Bluthirnschranke zu umgehen [69]. Kern et al. untersuchten in ihrer Studie den Einfluss von intranasal appliziertem CRH auf die Magensäuresekretion beim Menschen und konnten nach der intranasalen Applikation von 20 µg alle 10 min (insgesamt 240 µg) einen signifikanten Anstieg des Magen pH-Wertes beschreiben. Wobei die ersten Effekte schon nach der Applikation von 120 µg auftraten [75]. Basierend auf dem Wissen, dass CRH die Gewichtsregulation und die Energiehomöostase beeinflusst, war es Ziel dieser Arbeit die physiologischen Wirkmechanismen im Rahmen einer intranasalen CRH-Applikation in vivo herauszuarbeiten. Im Vordergrund stand sowohl die Beobachtung der lokalen Lipolyse im Fett- und Muskelgewebe, als auch die Erfassung der sympathischen Nervenaktivität und der Fettgewebsdurchblutung.

4.1 Sympathische Nervenaktivität

Die sympathische Nervenaktivität wurde in dieser Studie mit Hilfe der Mikroneurographie am N. peroneus superficialis gemessen. Aktuell gibt es Belege dafür, dass die Lipolyse im weißen Fettgewebe direkt durch das sympathische Nervensystem beeinflusst wird [14]. Ob auch der muskuläre Fettstoffwechsel durch die muskuläre MSNA beeinflusst werden kann, ist noch unbekannt. Es ist allerdings durchaus möglich, dass aus den sympathischen Nervenendigungen freigesetztes Noradrenalin lipolytische Wirkung im Muskel entfaltet.

In unserem Versuch zeigte sich die Nervenaktivität im Verlauf auf gleichbleibendem Niveau, ohne signifikante Erhöhung durch die CRH-Applikation. Dies spricht nicht für

eine direkt zentralnervöse Wirkung von CRH auf die basale Aktivität der Sympathoneurone zum Muskelgefäßbett wie sie aus Tierexperimenten vermutet wurde. Durch die Applikation von Nitroprussid-Natrium kam es zu einer Erhöhung der Nervenaktivität in beiden Gruppen, was auf eine korrekte Ableitung der Nervenaktivität schließen lässt. Hierbei zeigte sich die sympathische Nervenaktivität in der CRH-Gruppe höher, als in der Placebo-Gruppe. Dieser Unterschied erreichte jedoch kein Signifikanz-Niveau. Dieses Ergebnis könnte auf eine dezent erhöhte Barorezeptorreflexempfindlichkeit nach CRH-Applikation hinweisen, was eine vermehrte Erregung des sympathischen Nervensystems bedeuten würde. Die in unserem Versuch unter CRH stärker erhöhte Herzfrequenz nach Nitroprussid-Gabe würde einen sympathoexzitatorischen Effekt ebenfalls nahelegen. Im Tiermodell, sowie am Menschen wurde bereits ein sympathoexzitatorischer Effekt von CRH beschrieben [16, 32, 76]. Die vorliegenden Ergebnisse lassen ebenfalls einen solchen sympathoexzitatorischen Effekt durch CRH vermuten, der allerdings am Herzen deutlicher ausgeprägt ist, als im Muskelgefäßbett.

4.2 Effekte durch CRH auf die Perfusion von Haut- und Unterhautfettgewebe

Die Perfusion des Haut- und Unterhautfettgewebes wurde in der vorliegenden Studie mittels LDF untersucht. Es sollte festgestellt werden, ob CRH, z.B. durch die Beeinflussung des Sympathikotonus eine Veränderung der Perfusion von Haut und Fettgewebe bewirkt.

Durch intranasale CRH-Applikation wurde die Perfusion des Fettgewebes signifikant gesteigert. Dieser Effekt trat ca. 5 min. nach CRH Applikation ein und hielt für ca. 25 min. an. Danach bestand kein Unterschied mehr in der Perfusion zwischen beiden Gruppen, unabhängig von späterer Nitroprussid- und Phenylephrin-Gabe. Die Perfusionsmessung der Haut zeigte einen variablen Verlauf mit ähnlichem Niveau in Placebo und CRH-Gruppe über den gesamten Verlauf.

Die erhöhte Fettgewebsdurchblutung in der CRH-Gruppe ist möglicherweise relevant für die Interpretation der Mikrodialyseergebnisse: Eine verstärkte Perfusion kann einen vermehrten Abtransport von Metaboliten bewirken, sodass möglicherweise die Konzentration der Metaboliten im Gewebe unverändert bleibt, obwohl ein vermehrter Stoffwechsel durch CRH vorliegt.

Im subkutanen Fettgewebe befinden sich vor allem CRH-R1 Rezeptoren und der Gefäßtonus im Fettgewebe unterliegt unter anderem der Regulation des sympathischen Nervensystems [42]. Hierbei kommt es vor allen Dingen zu einer β -Rezeptor vermittelten Vasodilatation [31]. Aktuell stellt sich die Frage, ob die von uns beobachtete vermehrte Fettgewebsdurchblutung nach intranasaler CRH-Applikation durch eine direkte Wirkung an den Blutgefäßen ausgelöst worden sein könnte, oder ob evtl. eine Sympathikus vermittelte Veränderung vorliegt, die jedoch durch die Mikroneurographie nicht ausreichend dokumentiert werden konnte. Eine erhöhte Fettgewebsdurchblutung durch den Einfluss von Cortisol erscheint eher unwahrscheinlich, da im Serum nach CRH-Applikation keine erhöhten Cortisol-Spiegel dokumentiert werden konnten. Wellhöner et al. konnten nach intravenöser CRH-Applikation eine vermehrte Durchblutung der Haut dokumentieren, die Durchblutung im Fettgewebe änderte sich jedoch nicht [11].

4.3 Effekte von CRH auf den Metabolismus in Muskel- und Fettgewebe

Zur Erfassung lokaler und systemischer lipolytischer Prozesse nach intranasaler Applikation von CRH wurden die Konzentrationen der Metabolite Glycerol, Glucose, Lactat und Pyruvat per Mikrodialyse im Muskel- und Fettgewebe untersucht.

Es zeigte sich nach CRH-Applikation ein, im Verlauf progredienter Anstieg des Glycerols als Hinweis auf eine vermehrte Lipolyse im Fettgewebe. Dieser Anstieg erreichte jedoch kein Signifikanzniveau, da nach der Applikation von Placebo ebenfalls ein Anstieg von Glycerol auftrat, dieser war jedoch schwächer als der Anstieg nach der CRH-Applikation. Ebenso zeigten sich keine signifikanten Veränderungen für die Stoffwechselfparameter Glucose, Laktat und Pyruvat.

Eine mögliche Erklärung ist, dass die von uns intranasal applizierte CRH-Menge von 100 μg nicht ausreichend war, und erst bei höheren Dosen ein lipolytischer Effekt beobachtet werden kann. Hierzu sollten weitere Versuchsreihen mit entsprechend erhöhter, intranasaler CRH-Dosis durchgeführt werden. Weiterhin beträgt die Halbwertszeit von humanem CRH, welches in unserem Versuchsmodell verwendet wurde 9 Minuten [77], so dass bei einer Versuchslaufzeit von 3 Stunden eine Applikation in regelmäßigen Abständen zu überlegen ist.

In der Skelettmuskulatur zeigte sich ebenfalls keine signifikante Veränderung von Glycerol, Laktat oder Pyruvat. Auffällig war jedoch eine erniedrigte Glucosekonzentration.

Hierbei handelt es sich möglicherweise um eine vermehrte Glycolyse auf Grund der während des Versuchsablaufes erforderlichen Nahrungskarenz. Die nichtsignifikanten Ergebnisse für die Mikrodialyseparameter in der Skelettmuskulatur lassen ebenfalls eine möglicherweise unzureichende intranasale CRH-Konzentration vermuten.

Eine weitere Erklärung für den fehlenden Anstieg der Metabolite im Gewebe nach CRH-Applikation kann die bereits beschriebene vermehrte Gewebs-Perfusion in der CRH-Gruppe und der damit verbundene vermehrte Abtransport der Metabolite sein.

4.4 Veränderungen der Plasma- und Serumkonzentrationen

Die Plasmakonzentrationen von Glycerol, Glukose, Laktat, ACTH und den freien Fettsäuren zeigten keine signifikanten Veränderungen gegenüber Placebo. Eine möglicherweise verstärkte lokale Lipolyse kann im Plasma somit nicht verifiziert werden. Auch eine Erhöhung der Serumcatecholamine konnte nicht festgestellt werden, was eine stark erhöhte sympathische Nervenaktivität eher unwahrscheinlich erscheinen lässt. Es ist eher davon auszugehen, dass der sympathoexzitatorische Effekt sich in dieser niedrigen Dosierung so gering auswirkt, dass sich lediglich eine gesteigerte Empfindlichkeit in der medikamentösen Baroreflextestung, nicht aber in den gröberen Parametern wie der Veränderung der basalen sympathischen Nervenaktivität und der Serumcatecholamine zeigen lässt.

Im Plasma zeigte sich jedoch vor Beginn der Messungen eine signifikant erhöhte Konzentration von Cortisol. George SA et al. beobachteten bei Probanden die einer Stresssituation ausgesetzt waren eine vermehrte CRH-stimulierte Cortisol-Freisetzung [78]. Dies wäre jedoch ein intrinsischer Effekt zum Zeitpunkt null, nach CRH-Applikation lässt sich kein signifikanter Konzentrationsunterschied für Cortisol mehr nachweisen. Die erhöhte Plasma-Kortisol-Konzentration könnte somit auf ein erhöhtes Stressniveau der Probanden vor CRH-Applikation hinweisen. Dies würde auch mit der von uns dokumentierten, schon vor Versuchsbeginn erhöhten Herzfrequenz korrelieren.

In dem vorliegenden Versuch konnte lokal und systemisch keine direkte lipolytische Wirkung nach intranasaler Applikation von 100 µg CRH nachgewiesen werden. Es zeigten sich jedoch Hinweise auf eine möglicherweise leicht vermehrte lipolytische Aktivität im Fettgewebe, sowie ein möglicher sympathoexzitatorischer Effekt von CRH nach

intranasaler Applikation, bei möglicherweise leicht erhöhter Baroreflexrezeptorempfindlichkeit. Dieser Effekt sollte an größeren Stichproben und unter der Verwendung einer deutlich erhöhten intranasalen CRH-Dosis weiter erforscht werden.

4.5 Limitationen der Studie

Bei der Analyse der Ergebnisse fällt auf, dass bei einigen Parametern bereits die Baselinewerte zwischen den Gruppen unterschiedlich waren, was sich bei einem strikt doppelblind und randomisiert durchgeführten Experiment nicht erklären lässt. Dies spricht ebenso wie die große Streuung bei einigen Metaboliten dafür, dass für die untersuchten Parameter die Gruppengröße zu klein gewählt wurde. Unser Experiment kann als Grundlage für eine valide Powerberechnung für zukünftige Experimente dienen, die die Effekte von Peptiden auf den Fettgewebsstoffwechsel untersuchen aber letztlich nicht ausschließen, dass CRH nicht doch auch im in vivo Modell beim Menschen lipolytische Effekte entfaltet.

Ein weiteres Problem der vorliegenden Studie liegt sicherlich in der Tatsache, dass Gewebeflow im Muskelgefäßbett durch die Laserdopplerflowmetrie nicht erfasst werden kann. Selbst kleinste Muskelkontraktionen führen zu Dislokationen der Lasersonde, sodass eine Verlaufsmessung der Gewebepfusion annähernd unmöglich ist. Ohne die Korrelation von Metabolitkonzentration im Muskelgewebe und der Muskeldurchblutung sind sichere Aussagen zu der metabolischen Aktivität intranasal applizierten CRH nicht möglich.

Die möglicherweise zu gering gewählte Dosierung des CRH wurde bereits oben diskutiert, möglich ist allerdings auch, dass der Versuchszeitraum für die Untersuchung zu kurz gewählt wurde. Allerdings hat in einem identisch aufgebautem Experiment mit einem anderen Peptid (ACTH 4-10) dieses Hormon sehr rasche und signifikante Effekte auf den Fettgewebsmetabolismus entfaltet [65]. Dieses Experiment legt auch nahe, dass die Gruppengröße ausreicht, klare Peptideffekte auf den Fettgewebsmetabolismus darzustellen.

4.6 Klinische Relevanz

Für die lipolytische Aktivität des CRH in vivo gibt es Hinweise und das Konzept intranasal applizierbarer Neuropeptide ist grundsätzlich interessant bei der Behandlung der Adipositas, muss jedoch hinsichtlich Ihrer Dosis, Applikationsfrequenz und Wirksamkeit noch weiter erforscht werden. Möglicherweise können peripher wirksame CRH-R-Agonisten nach vorliegenden Ergebnissen zur Reduktion der Fettmasse eingesetzt werden um somit einer peripheren Insulinresistenz entgegen zu wirken. Da die Peptide jedoch nach oraler Gabe im Magen-Darm-Trakt inaktiviert werden, ist eine orale Applikation aktuell nicht möglich. Die intravenöse Therapie zeigt deutliche lipolytische Effekte, müsste jedoch unter stationären Bedingungen erfolgen. Alternativ wäre eine subkutane Applikationsform zu diskutieren, die jedoch Erfahrungsgemäß eher auf eine niedrige Akzeptanz von Seiten der Patienten stößt. Es bleibt fraglich, welche Langzeiteffekte und Nebenwirkungen unter der Therapie auftreten, da eine Dauerstimulation der CRH-R zu einer möglichen Down-Regulation der Rezeptoren und somit zu einer verminderten Wirkung führen kann. Seres et al. konnten eine verminderte Expression der CRH-R mRNA in Adipozyten nach einer Langzeitinkubation mit CRH in vitro nachweisen [42]. Sinnvoll erscheint in weiteren Studien aufgrund der erhöhten Inzidenz des metabolischen Syndroms die Effekte von CRH auf das viszerale Fettgewebe zu untersuchen. Ebenso wäre die Untersuchung von CRH-vermittelter Lipolyse bei adipösen Probanden sinnvoll, da übergewichtige Probanden möglicherweise unterschiedlich auf die CRH-Applikation reagieren.

Es erfordert eine weitere Erforschung des Fettstoffwechsels unter physiologischen und pathologischen Bedingungen um Therapie und Prävention der Adipositas langfristig ermöglichen zu können.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden in einer doppelblinden, Placebo kontrollierten Studie an 10 normal gewichtigen gesunden Männern (BMI $23 \pm 1,92$ kg/m² [Mittelwert \pm SD]) erstmalig die Effekte von intranasal appliziertem CRH auf die Lipolyse im Muskel- und subkutanen Fettgewebe, sowie die Beeinflussung der sympathischen Nervenaktivität in vivo untersucht. Durch die Mikrodialyse wurden die interstitiellen Konzentrationen von Glycerol, Laktat, Pyruvat und Glukose im Anschluss an eine einmalige intranasale CRH-Gabe (100 μ g), in der Muskulatur des linken Unterarmes und im abdominalen subkutanen Fettgewebe gemessen. Zeitgleich wurde die lokale Perfusion der Haut und des subkutanen Fettgewebes mit der Laser-Doppler-Flowmetrie bestimmt, sowie die Ableitung der sympathischen Nervenaktivität durch eine Punktion des N. peroneus superficialis vorgenommen.

Vorausgehende Studien konnten zeigen, dass CRH beim Menschen nach intravenöser Applikation ein signifikantes lipolytisches Potential besitzt. In unserem Versuch ließ sich nach intranasaler Applikation im Fettgewebe ebenfalls eine erhöhte Glycerolkonzentration gegenüber der Placebogabe nachweisen. Dieses Ergebnis – welches auf eine vermehrte lipolytische Aktivität hindeutet – erreichte jedoch kein Signifikanzniveau. Eine möglicherweise lokal verstärkte Lipolyse konnte im Plasma nicht verifiziert werden. Im Muskelgewebe zeigte sich kein Hinweis auf eine gesteigerte Lipolyse nach intranasaler CRH-Applikation.

Im Tiermodell, sowie am Menschen wurde bereits ein sympathoexzitatorischer Effekt von CRH beschrieben, bekannt ist, dass die Aktivierung des sympathischen Nervensystems zu einer gesteigerten Lipolyse führen kann. In unserer Arbeit zeigte sich nach CRH-Applikation zunächst keine erhöhte sympathische Nervenaktivität. Im Rahmen der Baroreflexrezeptor-Testung zeigte sich nach der Gabe von Nitroprussidnatrium gegenüber der Placebo-Gruppe jedoch eine verstärkte sympathische Nervenaktivität. Dieses Ergebnis könnte auf eine erhöhte Barorezeptorreflexempfindlichkeit nach der CRH-Applikation hinweisen. Ein Signifikanzniveau wurde aber, bei nur geringer Stichprobe nicht erreicht.

Somit lässt sich sagen, dass in dem vorliegenden Versuch aktuell lokal und systemisch keine direkte lipolytische Wirkung nach intranasaler Applikation von 100 μ g CRH nachgewiesen werden konnte. Es zeigen sich jedoch Hinweise auf eine möglicherweise leicht vermehrte lipolytische Aktivität im Fettgewebe, sowie ein möglicher

sympathoexzitatorischer Effekt von CRH nach intranasaler Applikation, bei leicht erhöhter Baroreflexrezeptorempfindlichkeit.

Um die genauen Mechanismen der CRH-vermittelten Lipolyse beim Menschen in vivo weiter zu untersuchen und damit eine mögliche Relevanz für die Pathophysiologie der Gewichtsregulation und den therapeutischen Einsatz von CRH-Agonisten für die Gewichtsabnahme zu untersuchen müssen weitere Studien erfolgen. Diese sollten an größeren Stichproben und unter der Verwendung einer deutlich erhöhten intranasalen CRH-Dosis durchgeführt werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Rosenbaum, M., R.L. Leibel, and J. Hirsch, *Obesity*. N Engl J Med, 1997. **337**(6): p. 396-407.
2. Freedman, D.S., et al., *Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study*. Pediatrics, 2001. **108**(3): p. 712-8.
3. Reaven, G.M., *Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease*. Diabetes, 1988. **37**(12): p. 1595-607.
4. Teran-Garcia, M. and C. Bouchard, *Genetics of the metabolic syndrome*. Appl Physiol Nutr Metab, 2007. **32**(1): p. 89-114.
5. Arase, K., N.S. Shargill, and G.A. Bray, *Effects of corticotropin releasing factor on genetically obese (fatty) rats*. Physiol Behav, 1989. **45**(3): p. 565-70.
6. Uehara, Y., et al., *Hypothalamic corticotropin-releasing hormone is a mediator of the anorexigenic effect of leptin*. Diabetes, 1998. **47**(6): p. 890-3.
7. Lang, F. and F. Verrey, *Hormone*. in Schmidt, Thews, *Physiologie des Menschen*. 2005, Springer. p. 459-89.
8. Dörr, H.-G., *Störungen der Nebennieren*. in Kruse K, *Pädiatrische Endokrinologie*. 1999, Thieme. p. 73-110.
9. www.laborlexikon.de. Laborlexikon. 11.01.2014 [cited 2014 11.01.].
10. Schulte, H.M., et al., *Krankheiten des Hypothalamus-Hypophysen-Systems*. in Gerok, Huber, Meinertz, Zeidler *Die Innere Medizin*. 2007, Schattauer. p. 905-30.
11. Wellhöner, P., et al., *In vivo effects of corticotropin-releasing hormone on femoral adipose tissue metabolism in women*. Int J Obes (Lond), 2007. **31**(4): p. 718-22.
12. Friedberg, M., et al., *Modulation of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in mature human subcutaneous adipocytes by hypothalamic messengers*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(1): p. 385-93.
13. Hochberg, Z., et al., *Hypothalamic regulation of adiposity: the role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1*. Horm Metab Res, 2004. **36**(6): p. 365-9.
14. Dodt, C., et al., *The subcutaneous lipolytic response to regional neural stimulation is reduced in obese women*. Diabetes, 2000. **49**(11): p. 1875-9.
15. Dodt, C., et al., *The stress hormone adrenocorticotropin enhances sympathetic outflow to the muscle vascular bed in humans*. J Hypertens, 1998. **16**(2): p. 195-201.

16. Arlt, J., et al., *Modulation of sympathetic activity by corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide*. *Neuropeptides*, 2003. **37**(6): p. 362-8.
17. Dardour, J.C., *[New anatomo clinic approach of adipose tissue]*. *Ann Chir Plast Esthet*, 2012. **57**(5): p. 454-64.
18. Saely, C.H., K. Geiger, and H. Drexel, *Brown versus white adipose tissue: a mini-review*. *Gerontology*, 2012. **58**(1): p. 15-23.
19. Gesta, S., Y.H. Tseng, and C.R. Kahn, *Developmental origin of fat: tracking obesity to its source*. *Cell*, 2007. **131**(2): p. 242-56.
20. Gratzl, M., *Fettgewebe*. in *Junqueira Carneiro Kelly Histologie*. 2005, Springer. p. 77-82
21. Ashwell, M., *Obesity risk: importance of the waist-to-height ratio*. *Nurs Stand*, 2009. **23**(41): p. 49-54; quiz 55.
22. Bose, K., *Age trends in adiposity and central body fat distribution among adult white men resident in Peterborough, East Anglia, England*. *Coll Antropol*, 2002. **26**(1): p. 179-86.
23. Bouchard, C. and L. Perusse, *Genetic aspects of obesity*. *Ann N Y Acad Sci*, 1993. **699**: p. 26-35.
24. Löffler, G., *Lipide*. in *Basiswissen Biochemie*. 2008, Springer p. 91-134.
25. Bartness, T.J. and M. Bamshad, *Innervation of mammalian white adipose tissue: implications for the regulation of total body fat*. *Am J Physiol*, 1998. **275**(5 Pt 2): p. R1399-411.
26. Flechtner-Mors, M., et al., *Sympathetic modulation of lipolysis in subcutaneous adipose tissue: effects of gender and energy restriction*. *J Lab Clin Med*, 1999. **134**(1): p. 33-41.
27. Kreier, F., et al., *Selective parasympathetic innervation of subcutaneous and intra-abdominal fat--functional implications*. *J Clin Invest*, 2002. **110**(9): p. 1243-50.
28. Zhang, Y., et al., *Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue*. *Nature*, 1994. **372**(6505): p. 425-32.
29. Pelleymounter, M.A., et al., *Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice*. *Science*, 1995. **269**(5223): p. 540-3.
30. Hallschmid, M., et al., *Manipulating central nervous mechanisms of food intake and body weight regulation by intranasal administration of neuropeptides in man*. *Physiol Behav*, 2004. **83**(1): p. 55-64.

31. Ballard, K.W., *Functional characteristics of the microcirculation in white adipose tissue*. Microvasc Res, 1978. **16**(1): p. 1-18.
32. Brown, M.R., et al., *Corticotropin-releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism*. Endocrinology, 1982. **111**(3): p. 928-31.
33. Wellhöner, P., et al., *Laser-Doppler flowmetry reveals rapid perfusion changes in adipose tissue of lean and obese females*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. **291**(5): p. E1025-30.
34. Gardan, D., F. Gondret, and I. Louveau, *Lipid metabolism and secretory function of porcine intramuscular adipocytes compared with subcutaneous and perirenal adipocytes*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006. **291**(2): p. E372-80.
35. Gondret, F., et al., *Regional differences in porcine adipocytes isolated from skeletal muscle and adipose tissues as identified by a proteomic approach*. J Anim Sci, 2008. **86**(9): p. 2115-25.
36. Quisth, V., et al., *Major differences in noradrenaline action on lipolysis and blood flow rates in skeletal muscle and adipose tissue in vivo*. Diabetologia, 2005. **48**(5): p. 946-53.
37. Hagstrom-Toft, E., et al., *Marked heterogeneity of human skeletal muscle lipolysis at rest*. Diabetes, 2002. **51**(12): p. 3376-83.
38. Jocken, J.W., et al., *Adipose triglyceride lipase (ATGL) expression in human skeletal muscle is type I (oxidative) fiber specific*. Histochem Cell Biol, 2008. **129**(4): p. 535-8.
39. Solinas, G., et al., *Corticotropin-releasing hormone directly stimulates thermogenesis in skeletal muscle possibly through substrate cycling between de novo lipogenesis and lipid oxidation*. Endocrinology, 2006. **147**(1): p. 31-8.
40. Smith, S.R., et al., *Peripheral administration of human corticotropin-releasing hormone: a novel method to increase energy expenditure and fat oxidation in man*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(5): p. 1991-8.
41. Fisher, L.A., *Central actions of corticotropin-releasing factor on autonomic nervous activity and cardiovascular functioning*. Ciba Found Symp, 1993. **172**: p. 243-53; discussion 253-7.
42. Seres, J., et al., *Corticotropin-releasing hormone system in human adipose tissue*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(2): p. 965-70.
43. Perrin, M.H. and W.W. Vale, *Corticotropin releasing factor receptors and their ligand family*. Ann N Y Acad Sci, 1999. **885**: p. 312-28.

44. Timpl, P., et al., *Impaired stress response and reduced anxiety in mice lacking a functional corticotropin-releasing hormone receptor 1*. Nat Genet, 1998. **19**(2): p. 162-6.
45. Slominski, A., et al., *Characterization of corticotropin-releasing hormone (CRH) in human skin*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(3): p. 1020-4.
46. Hiroi, N., et al., *Expression of corticotropin releasing hormone receptors type I and type II mRNA in suicide victims and controls*. Mol Psychiatry, 2001. **6**(5): p. 540-6.
47. Toriya, M., et al., *Long-term infusion of brain-derived neurotrophic factor reduces food intake and body weight via a corticotrophin-releasing hormone pathway in the paraventricular nucleus of the hypothalamus*. J Neuroendocrinol. **22**(9): p. 987-95.
48. Lonnroth, P., P.A. Jansson, and U. Smith, *A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans*. Am J Physiol, 1987. **253**(2 Pt 1): p. E228-31.
49. Benveniste, H. and P.C. Huttemeier, *Microdialysis--theory and application*. Prog Neurobiol, 1990. **35**(3): p. 195-215.
50. Bolinder, J., et al., *Microdialysis of subcutaneous adipose tissue in vivo for continuous glucose monitoring in man*. Scand J Clin Lab Invest, 1989. **49**(5): p. 465-74.
51. Bolinder, J., et al., *Rates of skeletal muscle and adipose tissue glycerol release in nonobese and obese subjects*. Diabetes, 2000. **49**(5): p. 797-802.
52. Bahlmann, L., et al., *Metabolic stress during hypoglycaemia clamp assessed by microdialysis*. Minerva Anesthesiol, 2005. **71**(11): p. 711-6.
53. Nijssen, M.J., et al., *Endogenous corticotropin-releasing hormone inhibits conditioned-fear-induced vagal activation in the rat*. Eur J Pharmacol, 2000. **389**(1): p. 89-98.
54. Hagbarth, K.E. and A.B. Vallbo, *Mechanoreceptor activity recorded percutaneously with semi-microelectrodes in human peripheral nerves*. Acta Physiol Scand, 1967. **69**(1): p. 121-2.
55. Hagbarth, K.E. and A.B. Vallbo, *Pulse and respiratory grouping of sympathetic impulses in human muscle-nerves*. Acta Physiol Scand, 1968. **74**(1): p. 96-108.
56. Vallbo, A.B. and K.E. Hagbarth, *Impulses recorded with micro-electrodes in human muscle nerves during stimulation of mechanoreceptors and voluntary contractions*. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1967. **23**(4): p. 392.

57. Vallbo, A.B. and K.E. Hagbarth, *Mechanoreceptor activity recorded from human peripheral nerves*. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 1968. **25**(4): p. 407.
58. Vallbo, A.B., et al., *Somatosensory, proprioceptive, and sympathetic activity in human peripheral nerves*. *Physiol Rev*, 1979. **59**(4): p. 919-57.
59. Vallbo, A.B., K.E. Hagbarth, and B.G. Wallin, *Microneurography: how the technique developed and its role in the investigation of the sympathetic nervous system*. *J Appl Physiol*, 2004. **96**(4): p. 1262-9.
60. Delius, W., et al., *General characteristics of sympathetic activity in human muscle nerves*. *Acta Physiol Scand*, 1972. **84**(1): p. 65-81.
61. Delius, W., et al., *Manoeuvres affecting sympathetic outflow in human skin nerves*. *Acta Physiol Scand*, 1972. **84**(2): p. 177-86.
62. Hagbarth, K.E., et al., *General characteristics of sympathetic activity in human skin nerves*. *Acta Physiol Scand*, 1972. **84**(2): p. 164-76.
63. Wilson, T.E., et al., *Vestibular activation does not influence skin sympathetic nerve responses during whole body heating*. *J Appl Physiol*, 2004. **97**(2): p. 540-4.
64. Wallin, B.G., *Human sympathetic nerve activity and blood pressure regulation*. *Clin Exp Hypertens A*, 1989. **11 Suppl 1**: p. 91-101.
65. Wellhöner, P., et al., *Intranasal application of the melanocortin 4 receptor agonist MSH/ACTH(4-10) in humans causes lipolysis in white adipose tissue*. *Int J Obes (Lond)*, 2012. **36**(5): p. 703-8.
66. Ehmke, H., *Das Kreislaufsystem*. in *Physiologie*. 2009, Thieme, p. 174-223.
67. Barnett, E.M. and S. Perlman, *The olfactory nerve and not the trigeminal nerve is the major site of CNS entry for mouse hepatitis virus, strain JHM*. *Virology*, 1993. **194**(1): p. 185-91.
68. Kern, W., et al., *Central nervous system effects of intranasally administered insulin during euglycemia in men*. *Diabetes*, 1999. **48**(3): p. 557-63.
69. Born, J., et al., *Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain*. *Nat Neurosci*, 2002. **5**(6): p. 514-6.
70. Illum, L., *Nasal drug delivery: new developments and strategies*. *Drug Discov Today*, 2002. **7**(23): p. 1184-9.
71. Kristensson, K., Y. Olsson, and J. Sjostrand, *Axonal uptake and retrograde transport of exogenous proteins in the hypoglossal nerve*. *Brain Res*, 1971. **32**(2): p. 399-406.

72. Fehm, H.L., et al., *The melanocortin melanocyte-stimulating hormone/adrenocorticotropin(4-10) decreases body fat in humans.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(3): p. 1144-8.
73. Hackney, A.C. and A. Viru, *Twenty-four-hour cortisol response to multiple daily exercise sessions of moderate and high intensity.* Clin Physiol, 1999. **19**(2): p. 178-82.
74. Parati, G., et al., *Comparison of finger and intra-arterial blood pressure monitoring at rest and during laboratory testing.* Hypertension, 1989. **13**(6 Pt 1): p. 647-55.
75. Kern, W., et al., *Evidence for central nervous effects of corticotropin-releasing hormone on gastric acid secretion in humans.* Neuroendocrinology, 1997. **65**(4): p. 291-8.
76. Irwin, M., R. Hauger, and M. Brown, *Central corticotropin-releasing hormone activates the sympathetic nervous system and reduces immune function: increased responsivity of the aged rat.* Endocrinology, 1992. **131**(3): p. 1047-53.
77. Geraciotti, T.D., Jr., et al., *Cortisol, thyroid hormone, and mood in atypical depression: a longitudinal case study.* Biol Psychiatry, 1992. **31**(5): p. 515-9.
78. George, S.A., et al., *CRH-stimulated cortisol release and food intake in healthy, non-obese adults.* Psychoneuroendocrinology, 2010. **35**(4): p. 607-12.

7. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

7.1 Tabellen

Tab.1.1: Wichtige an der Nahrungsaufnahme und Gewichtsregulation beteiligte Hormone und Neurotransmitter	3
Tab.2.1: Probandencharakteristika (MW±SEM)	14

7.2 Abbildungen

Abb.1.1: Beispiel einer Ableitung sympathischer Summenpotentiale der MSNA	9
Abb.2.1: Schematische Darstellung des Versuchablaufes	17
Abb. 3.1.1: Hautperfusion vor und nach Verum-/Placebo-Gabe	23
Abb. 3.1.2: Fettgewebsperfusion vor und nach Verum-/Placebo-Gabe	24
Abb. 3.2.1: Glukosekonzentration in Prozent der Baseline im subkutanen Fettgewebe	25
Abb. 3.2.2: Glukosekonzentration in Prozent der Baseline im Muskelgewebe	26
Abb. 3.2.3: Laktatkonzentration in Prozent der Baseline im subkutanen Fettgewebe	26
Abb. 3.2.4: Laktatkonzentration in Prozent der Baseline im Muskelgewebe	27
Abb. 3.2.5: Glycerolkonzentration in Prozent der Baseline im subkutanen Fettgewebe	28
Abb. 3.2.6: Glycerolkonzentrationen in Prozent der Baseline im Muskelgewebe	28
Abb. 3.2.7: Pyruvatkonzentration in Prozent der Baseline im subkutanen Fettgewebe	29
Abb. 3.2.8: Pyruvatkonzentration in Prozent der Baseline im Muskelgewebe	30
Abb. 3.3: MSNA dargestellt als Burstfrequenz (bursts/min)	31
Abb. 3.4.1: Serum-Cortisol-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	32
Abb. 3.4.2: Serum-ACTH-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	33
Abb. 3.4.3: Serum-Glukose-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	33
Abb. 3.4.4: Serum-Laktat-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	34
Abb. 3.4.5: Serum-Glycerol-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	34
Abb. 3.4.6: Serum-Adrenalin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	35
Abb. 3.4.7: Serum-Noradrenalin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	36
Abb. 3.4.8: Serum-Spiegel der freien Fettsäuren vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	37
Abb. 3.4.9: Serum-Insulin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	37
Abb. 3.4.10: Serum-Adiponektin-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	38

Abb. 3.4.11: Serum-Pyruvat-Spiegel vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	38
Abb. 3.5.1: Herzfrequenz vor und nach Placebo-/CRH-Gabe	39

8. Anhang

8.1 Liste der verwendeten Materialien

ACTH Immunoassay IMMULITE®ACTH, DPC®, Los Angeles, USA
CMA Perfusion Fluid T1® CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden
Cortisol Immunoassay IMMULITE®Cortisol, DPC®, Los Angeles, USA
Finapres™ Ohmeda Monitoring System, Englewood;
Colorado, USA
Laser-Doppler-Sonde (subcutan) Probe 402 (needle probe),
Perimed, Järfälla, Schweden
Laser-Doppler-Sonde (Haut) Probe 407-1 (small straight probe), Perimed,
Järfälla, Schweden
Mikrodialyse-Katheter CMA60 Membranlänge: 30mm, Cut-off: 20 kD,
CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden
Mikrodialyse-Pumpe CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden
Mikroneurographie-Verstärker T. Karlsson, Göteborg, Schweden
Mikrovials CMA/Microdialysis AB, Stockholm, Schweden
Monovetten® Fa. Sarstedt, D-51588 Nümbrecht
Ringer-Lösung B. Braun Melsungen AG, Deutschland
Perfusorleitung Injectomat® 150 cm Fresenius Kabi, Homburg, Deutschland
Reaktionsgefäß 1,5 ml Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland
Software GraphPad Prism 4.0, GraphPad Software Inc.
San Diego, Californien, USA
Perimed, Järfälla, Schweden
Powerlab®, Spechbach, Deutschland
Reference Manager 10.0, ISI Research
Software, California, USA
SigmaPlot 8.0, Systat Software Inc., San Jose,
Californien, USA
Stimulator Grass® S48 Grass Instrument Company, Quincy, Mass.,USA
Venflon™ 1,2/45 mm (i.v.), 0.8/25 mm (s.c.)
Zentrifuge FBA 21 Fa. Hettich, Tutlingen Deutschland

8.2 Wertetabellen

Tabelle 8.1: Daten von Glucose, Laktat, Glycerol und Pyruvat aus dem Mikrodialysat des weißen abdominalen Fettgewebes, Mittelwert und Standardabweichung in mmol/l.

	Glukose				Laktat				Glycerol				Pyruvat			
	CRH		Placebo		CRH		Placebo		CRH		Placebo		CRH		Placebo	
Minuten	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW
0,0	2,88	0,73	2,70	1,22	1,01	0,53	0,75	0,47	81,44	38,22	103,00	48,11	50,25	30,63	47,88	33,51
15,0	2,76	0,83	2,61	1,00	1,03	0,48	0,83	0,58	96,11	41,97	107,00	67,20	53,38	24,51	46,00	31,63
30,0	2,69	0,78	2,57	1,08	1,13	0,52	0,97	0,60	101,11	42,84	115,75	76,14	48,00	22,70	49,88	29,99
45,0	2,73	0,76	2,51	0,92	1,27	0,54	1,00	0,47	108,89	43,48	127,38	75,86	52,44	26,46	52,50	26,45
60,0	2,59	0,80	2,79	1,11	1,32	0,60	1,14	0,55	110,11	45,54	132,38	74,17	55,33	26,18	55,25	30,32
75,0	2,49	0,78	2,62	1,08	1,36	0,63	1,07	0,44	118,89	49,46	134,13	68,74	55,67	26,83	52,50	26,60
90,0	2,58	0,76	2,85	1,09	1,42	0,70	1,14	0,48	127,56	53,89	143,75	62,50	59,44	32,14	56,75	28,99
105,0	2,57	0,65	2,77	1,03	1,41	0,73	1,09	0,41	134,00	56,06	130,75	58,72	63,00	31,89	54,00	26,73
120,0	2,60	0,77	2,87	1,17	1,32	0,65	1,12	0,47	133,67	59,46	135,38	64,75	61,89	27,98	56,88	27,26
135,0	2,67	0,81	2,77	1,03	1,23	0,54	1,06	0,38	135,89	64,23	139,13	62,01	61,22	23,34	54,38	25,49
150,0	2,78	0,76	2,81	1,13	1,30	0,64	1,04	0,41	142,44	54,10	144,43	57,97	64,11	29,28	60,57	24,08

Tabelle 8.2: Daten von Glucose, Laktat, Glycerol und Pyruvat aus dem Mikrodialysat des Muskelgewebes, Mittelwert und Standardabweichung in mmol/l.

Minuten	Glukose				Laktat				Glycerol				Pyruvat			
	CRH		Placebo		CRH		Placebo		CRH		Placebo		CRH		Placebo	
	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW
0,0	2,61	0,28	2,38	0,93	1,75	0,79	1,52	0,60	62,67	16,93	60,63	16,47	26,78	13,66	25,00	20,31
15,0	2,25	0,31	2,52	0,36	1,83	0,47	1,78	0,56	38,67	10,48	46,63	19,99	38,67	11,98	35,57	20,02
30,0	2,20	0,37	2,51	0,27	1,78	0,56	1,89	0,48	38,00	12,00	41,88	16,69	43,00	10,02	39,88	18,79
45,0	2,22	0,42	2,46	0,25	1,86	0,51	1,95	0,47	39,22	13,12	43,13	14,15	46,11	10,76	45,88	17,59
60,0	2,07	0,32	2,44	0,25	1,86	0,52	1,67	0,83	39,67	15,28	43,88	16,26	52,44	13,15	50,50	18,12
75,0	2,14	0,36	2,50	0,23	1,99	0,55	1,96	0,61	42,67	15,07	44,38	16,28	58,78	15,94	53,75	19,76
90,0	2,09	0,39	2,60	0,13	1,91	0,53	2,06	0,48	41,89	15,38	49,00	16,61	59,89	16,49	59,63	22,90
105,0	2,12	0,59	2,51	0,32	2,03	0,52	2,00	0,49	44,56	16,02	46,75	18,45	65,33	21,78	58,00	19,06
120,0	2,07	0,48	2,49	0,31	2,01	0,46	2,08	0,42	43,89	15,66	47,75	19,35	71,56	22,45	65,50	20,93
135,0	2,08	0,48	2,46	0,35	2,12	0,52	2,10	0,45	44,89	15,46	48,50	20,13	77,44	21,36	67,88	22,62
150,0	2,06	0,31	2,66	0,42	2,01	0,43	2,03	0,76	47,22	15,13	55,86	15,72	79,89	18,37	74,00	24,83

Tabelle 8.3: Daten von Glucose, Laktat, Glycerol und Pyruvat aus dem Serum, Mittelwert und Standardabweichung in mmol/l (Glucose, Laktat) und $\mu\text{mol/l}$ (Glycerol, Pyruvat).

	Glucose				Laktat				Glycerol				Pyruvat			
	CRH		Placebo		CRH		Placebo		CRH		Placebo		CRH		Placebo	
Minuten	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW	MW	STBW
0	4,34	1,44	4,72	0,49	0,99	0,81	0,88	0,38	52,00	23,63	61,20	29,89	28,13	40,39	15,29	18,90
30	4,70	0,24	4,58	0,56	0,68	0,18	0,71	0,22	40,20	25,98	42,90	22,11	14,44	11,08	15,25	14,50
60	4,71	0,24	4,65	0,45	0,65	0,17	0,72	0,21	39,30	25,65	51,10	23,60	14,38	11,49	19,75	21,28
90	4,74	0,17	4,71	0,30	0,63	0,13	0,71	0,16	45,90	24,10	57,90	21,51	19,14	16,69	12,71	10,21
120	4,72	0,26	4,67	0,29	0,62	0,14	0,71	0,14	44,90	25,63	61,10	23,50	12,00	12,41	11,11	12,07
150	4,60	0,35	4,68	0,31	0,56	0,16	0,68	0,12	45,10	24,36	61,20	21,28	13,70	12,38	12,13	11,47

Tabelle 8.4: Daten von Adiponektin ($\mu\text{g/ml}$), Cortisol ($\mu\text{g/ml}$), Noradrenalin (pg/ml), Adrenalin (pg/ml) und Insulin ($\mu\text{U/ml}$) aus dem Serum. Mittelwert und Standardabweichung.

		Minuten	0	60	120
Adiponektin	CRH	MW	9,21	8,89	8,92
		STABW	1,78	1,68	1,26
	Placebo	MW	10,62	9,57	8,78
		STABW	3,89	3,47	3,59
Cortisol	CRH	MW	17,39	9,62	9,09
		STABW	2,85	3,11	2,19
	Placebo	MW	15,17	9,21	8,74
		STABW	3,08	2,73	2,68
Noradrenalin	CRH	MW	190,30	119,20	121,20
		STABW	117,98	88,20	93,58
	Placebo	MW	134,50	86,40	84,80
		STABW	88,34	52,28	52,52
Adrenalin	CRH	MW	31,80	26,60	27,00
		STABW	14,63	9,72	8,29
	Placebo	MW	22,50	25,56	28,10
		STABW	9,24	11,41	16,35
Insulin	CRH	MW	4,35	3,36	3,02
		STABW	2,92	1,72	1,36
	Placebo	MW	5,49	3,50	3,61
		STABW	3,24	2,13	2,35

Tabelle 8.5: Daten von ACTH (pg/ml) und Freien Fettsäuren (FFS) (mmol/ml) aus dem Serum. Mittelwert und Standardabweichung.

Minuten	ACTH				FFS			
	CRH		Placebo		CRH		Placebo	
	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW	MW	STABW
0	49,45	30,75	30,56	12,32	0,39	0,20	0,37	0,17
30	19,30	5,73	24,80	14,49	0,39	0,27	0,41	0,24
60	19,47	5,62	20,22	6,99	0,42	0,30	0,45	0,23
90	21,32	6,29	17,70	5,32	0,46	0,26	0,53	0,25
120	19,77	6,07	18,82	6,96	0,47	0,26	0,55	0,25
150	19,29	7,58	18,21	7,24	0,55	0,31	0,60	0,20

8.1 Probandenaufklärung

Sehr geehrte Probanden,

hiermit möchten wir Sie über unseren Versuchsablauf aufklären und die Sie betreffenden Anforderungen und eventuelle Risiken erläutern.

Unsere Versuchsplanung sieht drei Versuchstage vor, zwischen denen jeweils drei versuchsfreie Wochen liegen müssen. Ein Versuchstag dauert ca. vier bis sechs Stunden. Wir wollen mittels Mikrodialyse den Stoffwechsel im Fett- und Muskelgewebe kontrollieren. Hierfür werden wir jeweils eine Mikrodialysemembran (feiner Plastikschauch) in den Unterarmmuskel und eine in das Unterhautfettgewebe des Bauches platzieren.

Zusätzlich wird noch eine feine Nadel in das Unterhautfettgewebe des Bauches gelegt, mit der per Laserstrahl die Flussgeschwindigkeit des Blutes in der Umgebung der Mikrodialyse überwacht werden soll. Sie erhalten eine Venenverweilkanüle in einem Arm, über die dann im Laufe des Versuches insgesamt ca. 150 ml Blut abgenommen wird. Über diese Nadel wird gleichzeitig eine Kochsalzlösung infundiert, um Ihnen ausreichend Flüssigkeit zukommen zu lassen.

Weiter werden Sie mit einer Blutdruckmanschette, einem EKG und einem Atemexkursionsgurt an einem Monitor angeschlossen. Dann wird mit einer feinen Elektrode die Muskelaktivität im linken Unterschenkel geprüft und ebenfalls auf dem Monitor dargestellt. Dieses Verfahren ist nicht schmerzhaft.

Diese Vorbereitungen sollten innerhalb der ersten 1,5 Stunden abgeschlossen sein, dann beginnt der Versuch mit der Applikation von CRH, MSH/ACTH(4-10) oder dem Placebo in Form eines Nasensprays. Die Studie ist doppelt verblindet. In den folgenden drei Stunden wird halbstündlich Blut abgenommen. Nach drei Stunden wird abschließend einmal Nitroprussidnatrium und einmal Phenylephrin in tausendfacher Verdünnung appliziert um den Blutdruck erst um 15mmHg zu senken und dann um 15mmHg zu erhöhen. Von dieser Applikation merkt der Proband normalerweise nichts.

Risiken:

Die Risiken, die mit dieser Methode der Stoffwechselformung verbunden sind, kann man als sehr gering einzuschätzen. Die Applikation von CRH oder MSH/ACTH (4-10) kann unter Umständen zu Unverträglichkeitsreaktionen führen.

In den seltensten Fällen kann es zu Blutungen, Infektionen oder Nervenverletzungen im Bereich der Einstichstellen kommen.

Wenn Sie noch weitere Fragen zu unserem methodischen Vorgehen haben, können Sie sich gerne an den betreuenden Arzt Dr. Wellhöner wenden. Mit Ihrer Unterschrift bestätigen Sie, dass Sie ausreichend über die Versuchsdurchführung aufgeklärt worden sind. Sie erklären sich unter Kenntnisnahme dieser Probandenaufklärung einverstanden an unserem Versuch teilzunehmen.

8.2 Ethikvotum

Die vorliegende Studie wurde von der Ethikkommission unter berufsethischen, medizinisch-wissenschaftlichen und berufsrechtlichen Gesichtspunkten geprüft und mit dem Schreiben vom 03.02.2004 als ethisch unbedenklich eingestuft (Aktenzeichen 04-006).

8.3 Danksagung

Ich danke Prof. Christoph Dodt für die Bereitstellung des Themas und die aktive Betreuung herzlich. Dr. Peter Wellhöner danke ich für die Unterstützung bei der Versuchsdurchführung und der Auswertung der Daten, sowie die Anregungen zur Diskussion. Durch ihre unbeschwerte, heitere und freundliche Art haben sie mir das wissenschaftliche Arbeiten nahegebracht und mein Interesse für die Innere Medizin geweckt. Ich bin froh mit ihnen zusammengearbeitet haben zu dürfen.

Darüber hinaus danke ich den teilnehmenden Probanden für ihre unendliche Geduld, mit der sie die lange Versuchszeit klaglos ertragen haben, ohne sie hätte die vorliegende Arbeit nicht durchgeführt werden können.

Zudem möchte ich Dr. med. Friedhelm Sayk und Dr. med. Jan Struck für die Unterstützung in der Durchführung der MSNA danken.

Ein großer Dank gilt Martina für die Analyse der Proben.

Ruth Hörster danke ich für die freundschaftliche Unterstützung in der Durchführung der Versuche.

Ich danke meinen Eltern für ihre bedingungslose Unterstützung und dafür, dass sie mir mein Studium ermöglicht haben.

Meinem Mann Robert danke ich vor allem für seine Geduld und seinen unbedingten Willen mir Freude an wissenschaftlicher Arbeit zu vermitteln, ohne ihn wäre diese Arbeit sicher nicht zu Stande gekommen.

8.4 Lebenslauf

Persönliche Daten	Name: Friederike Jacobs Geboren am 04.20.1982 in Hagen (Westf.) Nationalität: deutsch
Ausbildung (Schule):	August 1993 – Juni 2002 Hannah-Arendt-Gymnasium- Lengerich, Lengerich, Deutschland Abschluss mit der allgemeinen Hochschulreife
Ausbildung (Hochschule):	Von Oktober 2002 – Oktober 2008 ordentlich immatrikulierte Studentin der Universität zu Lübeck, Lübeck, Deutschland Im Oktober 2008: Approbation als Ärztin
Dissertation:	Seit Januar 2005 Dissertation in der Medizinischen Klinik I der Universitätsklinik Schleswig-Holstein, Campus Lübeck, Prof. Dr. med. Christoph Dodt Thema: „Der Einfluss von intranasal appliziertem Corticoliberin auf die Lipolyse im Muskel –und Fettgewebe junger Männer“
Veröffentlichungen:	International Journal of Obesity (2012) Intranasal application of the melanocortin 4 receptor agonist MSH/ACTH(4 –10) in humans causes lipolysis in white adipose tissue P Wellhöner ¹ , R Hörster ¹ , F Jacobs ¹ , F Sayk ¹ , H Lehnert ¹ and C Dodt ² .
Weiterbildung:	Seit April 2009 Assistenzärztin in der Inneren Medizin des Hildegardis Krankenhaus Köln

