

**Aus dem
Institut für Medizinische Psychologie der Universität Tübingen**

**Die Wirkung von Orexin A auf Glucosestoffwechsel,
Geruchswahrnehmung und Energiehomöostase des
Menschen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Paz Lobato, Tamara, geb. Elsässer

2021

Dekan:	Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter:	Professor Dr. M. Hallschmid
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. A. Lindner
Tag der Disputation:	10.11.2021

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	VI
Tabellenverzeichnis.....	VIII
Abkürzungsverzeichnis	IX
1 Einleitung.....	- 1 -
1.1 Hintergrund	- 1 -
1.2 Das Orexin-System	- 2 -
1.2.1 Die Entdeckung der Orexine.....	- 2 -
1.2.2 Struktur	- 3 -
1.2.3 Die Orexin-Neuronen.....	- 4 -
1.3 Funktionen des Orexin-Systems	- 5 -
1.3.1 Aktivierungszustand.....	- 5 -
1.3.2 Nahrungsaufnahme	- 6 -
1.3.3 Glucosehomöostase	- 9 -
1.3.4 Olfaktion	- 12 -
1.4 Die Methode der intranasalen Neuropeptidgabe.....	- 14 -
1.5 Fragestellung	- 15 -
2 Material und Methoden	- 17 -
2.1 Probanden.....	- 17 -
2.2 Studiendesign	- 17 -
2.3 Versuchsablauf	- 18 -
2.4 Messinstrumente.....	- 20 -
2.4.1 Glucosestoffwechsel.....	- 21 -
2.4.1.1 Blutentnahmen und Hormonbestimmung	- 21 -
2.4.1.2 Oraler Glucosetoleranztest (oGTT).....	- 22 -
2.4.2 Energiehaushalt.....	- 23 -
2.4.2.1 Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA).....	- 23 -
2.4.2.2 Nahrungsaufnahme.....	- 24 -
2.4.2.3 Hedonische Nahrungsbewertung	- 24 -
2.4.2.4 Visuelle Analogskala (VAS).....	- 25 -
2.4.2.5 Indirekte Kalorimetrie	- 25 -

2.4.3	Olfaktorische Wahrnehmung (Sniffin' Sticks).....	- 26 -
2.4.4	Kognitive Leistung	- 27 -
2.4.4.1	Digit Span-Test	- 27 -
2.4.4.2	Psychomotorischer Vigilanztest	- 28 -
2.4.5	Kontrollmaße	- 28 -
2.4.5.1	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)	- 28 -
2.4.5.2	Blutdruck und Herzfrequenz.....	- 29 -
2.5	Statistische Auswertung	- 30 -
3	Ergebnisse.....	- 31 -
3.1	Blutwerte	- 31 -
3.1.1	Glucose	- 31 -
3.1.2	Insulin	- 32 -
3.1.3	C-Peptid.....	- 33 -
3.1.4	Laktat.....	- 34 -
3.1.5	NEFA.....	- 35 -
3.1.6	ACTH.....	- 36 -
3.1.7	Cortisol	- 37 -
3.1.8	Somatotropin	- 39 -
3.2	Energiehaushalt	- 39 -
3.2.1	Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA)	- 39 -
3.2.2	Nahrungsaufnahme	- 41 -
3.2.3	Hedonische Nahrungsbewertung.....	- 42 -
3.2.4	Visuelle Analogskala (VAS).....	- 43 -
3.2.5	Indirekte Kalorimetrie.....	- 43 -
3.3	Olfaktorische Wahrnehmung (Sniffin' Sticks)	- 45 -
3.4	Kognitive Leistung.....	- 48 -
3.4.1	Digit Span-Test.....	- 48 -
3.4.2	Psychomotorischer Vigilanztest.....	- 49 -
3.5	Kontrollmaße	- 51 -
3.5.1	Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF).....	- 51 -
3.5.2	Blutdruck und Herzfrequenz	- 52 -
4	Diskussion	- 55 -

4.1	Glucosestoffwechsel	- 55 -
4.2	Nahrungsaufnahme und Energiehaushalt	- 57 -
4.3	Olfaktion	- 61 -
4.4	Kognition und Vigilanz	- 63 -
4.5	Kontrollmaße	- 64 -
4.6	Limitationen	- 65 -
5	Zusammenfassung	- 67 -
6	Literaturverzeichnis	- 69 -
7	Erklärung zum Eigenanteil	- 80 -
	Danksagung	- 81 -

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Glucosekonzentration (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung.....	- 32 -
Abbildung 2: Insulinkonzentration (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung.....	- 33 -
Abbildung 3: C-Peptid im Serum (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 34 -
Abbildung 4: Laktatspiegel (MW± SEM), in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 35 -
Abbildung 5: NEFA Konzentrationen (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 36 -
Abbildung 6: ACTH Spiegel im Plasma (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 37 -
Abbildung 7: Cortisolspiegel (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 38 -
Abbildung 8: Somatotropin-Spiegel (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung.....	- 39 -
Abbildung 9: Kalorienverzehr im Rahmen des Snacktests in kcal (MW±SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung.....	- 41 -
Abbildung 10: Verzehr der verschiedenen Kekssorten im Rahmen des Snacktests (MW±SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 42 -
Abbildung 11: VAS-Werte bezüglich der Frage „Verlangen nach Essen generell“ in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 42 -
Abbildung 12: Ruheumsatz in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung- -	44 -
Abbildung 13: Differenz der respiratorischen Quotienten (RQ) (MW±SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 44 -
Abbildung 14: Sniffin' Sticks Ergebnisse (MW±SEM) für Geruchsschwelle, Diskriminationsaufgabe und Identifikation in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 46 -
Abbildung 15: Sniffin' Sticks Ergebnisse (MW±SEM), für die Untergruppe Normosmie in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung.....	- 47 -

Abbildung 16: Sniffin' Sticks Ergebnisse (MW±SEM), für die Untergruppe Hyposmie in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung - 48 -

Abbildung 17: Ergebnisse aus der Vigilanzaufgabe Genauigkeit (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung..... - 50 -

Abbildung 18: Vigilanzaufgabe Summe der korrekten Antworten (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung..... - 51 -

Abbildung 19: MDBF Werte zu den Qualitäten Wachheit und Müdigkeit (WM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung..... - 52 -

Abbildung 20: Blutdruck systolisch und diastolisch (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung..... - 53 -

Abbildung 21: Herzfrequenz (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung. - 54 -

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Schematische Darstellung des Versuchsablaufs	- 19 -
Tabelle 2: Normwerte des SDI-Scores im Sniffin' Sticks Test.....	- 27 -
Tabelle 3: BIA-Ergebnisse (MW±SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung	- 40 -
Tabelle 4: Digit Span Ergebnisse (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung.....	- 49 -

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ANOVA	Varianzanalyse
AUC	Fläche unter der Kurve
BMI	Body Mass Index
BIA	Bioimpedanzanalyse
BCM	Body Cell Mass
HPA Achse	Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse
iAUC	Inkrementelle Fläche unter der Kurve (incremental area under the curve)
ISI	Insulinsensitivitätsindex
kcal	Kilokalorien
kDa	Kilo Dalton
LFPQ	Leeds Food Preference Questionnaire
mRNA	Messenger RNA
Min.	Minute
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
NEFA	nicht veresterte Fettsäuren bzw. freie Fettsäuren (non-esterified fatty acids)
oGTT	Oraler Glucose-Toleranztest
OX1R	Orexin-Rezeptor 1
OX2R	Orexin-Rezeptor 2
PFS	Power-of-Food-Scale
SDI-Score	Schwellen-Diskriminations-Identifikations-Score
SEM	Standardfehler des Mittelwerts
TAP	Test of Attentional Performance
VAS	Visuelle Analogskala
WM	Wachheit bzw. Müdigkeit

1 Einleitung

1.1 Hintergrund

Die Entdeckung der Orexin-Peptidfamilie liegt noch nicht lange zurück (de Lecea et al. 1998, Sakurai et al. 1998); mit ihrer Enthüllung im Jahre 1998 wurde der Weg für weitere Studien zur Erforschung ihrer Lokalisation und Funktion geebnet. Besonders die tierexperimentelle Untersuchung von Orexinen und ihrer Wirkungsweise liefert immer mehr Informationen über diese Peptidgruppe. Neben der Erforschung der Struktur und Liganden der Orexine (Sakurai et al. 1998) sind auch die Frage nach den Wechselwirkungen und Funktionen ein Teil aktueller Forschungen. So konnte u.a. nachgewiesen werden, dass Orexin A neben einem Einfluss auf Aktivierung und Schlaf (Nishino et al. 2000) im Tiermodell ebenfalls über die Nahrungsaufnahme anregende Einflüsse verfügt (Sakurai et al. 1998). Darüber hinaus können Orexin A analgetische Eigenschaften zugeschrieben werden (Bingham et al. 2001). Ferner wurden unter Einfluss von Orexin A ein erhöhter Sauerstoffverbrauch und ein Anstieg der Körperkerntemperatur beobachtet (Wang et al. 2001).

In Hinblick auf den Stoffwechsel führt die Applikation von Orexin A und B im Rahmen eines oralen Glucose-Toleranztests (oGTT) im Experiment zu einer messbaren Senkung des Blutglucosespiegels (Ducroc et al. 2007). Im Übrigen haben weitere Studien belegt, dass Orexin A bezüglich der altersbezogenen Insulinresistenz eine protektive Wirkung hervorruft: Dementsprechend führt ein Orexin-Mangel im Tiermodell zu einer gestörten altersbezogenen Glucosetoleranz und einer peripheren Insulinresistenz (Tsuneki et al. 2008). Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass Orexine in den Glucosestoffwechsel des Skelettmuskels eingreifen. Sie fördern sowohl die Glucoseaufnahme als auch die Insulinsensitivität des Skelettmuskels (Shiuchi et al. 2009). Im Rahmen einer Exploration des Orexinhaushalts konnte bei Übergewichtigen eine verminderte Expression des Orexin-Gens nachgewiesen werden (Cai et al. 2000). Ein ähnlicher Effekt ließ sich auch hinsichtlich der Kombination aus Hyperglykämie und peripherer Insulinresistenz beobachten (Tsuneki et al. 2010). Ausgehend von diesen Ergebnissen lässt dies eine

protektive Wirkung der Orexine vermuten.

In Bezugnahme auf den Zusammenhang zwischen Orexin A und Stoffwechselfvorgängen gibt es bereits eine Vielzahl an Resultaten und darauf basierenden Hypothesen, allerdings ist noch fraglich, inwiefern sich die im Tiermodell beobachteten Effekte auf den menschlichen Organismus übertragen lassen. Das Ziel unseres Experiments war zu ermitteln, ob und in welchem Ausmaß die Zufuhr von intranasal appliziertem Orexin A eine Wirkung auf den Glucosestoffwechsel des Menschen ausübt. Primär sollte untersucht werden, ob Orexin A im Rahmen eines oGTT den postprandialen Glucosespiegel und Insulinspiegel senkt. Zudem wurde bestimmt, ob Orexin das Hungergefühl und Verlangen nach Nahrungsmitteln fördert und ob Orexin A das Geruchsvermögen hinsichtlich Nahrung sensibilisiert. Ein Augenmerk wurde speziell auf die quantitative Nahrungszufuhr unter Orexin A gelegt und darauf, ob sich eine signifikante Steigerung vermerken lässt. Eine Messung des Kalorienverbrauchs sollte zudem zeigen, ob Orexin A zu einem gesteigerten Energieumsatz beiträgt. Diese Fragen wurden an gesunden Probanden im Nüchternzustand, nach einem oGTT und einer standardisierten Mahlzeit anhand von laborchemischen Bestimmungen, sowie Fragebögen untersucht.

1.2 Das Orexin-System

1.2.1 Die Entdeckung der Orexine

Die Peptidgruppe der Orexine ist heutzutage unter zwei verschiedenen Bezeichnungen bekannt, d.h. als „Orexine“ und als „Hypokretine“. Dies ist in der Geschichte ihrer Entdeckung begründet. Im Jahre 1998 gelang zwei Arbeitsgruppen zeitgleich, aber unabhängig voneinander und auf verschiedenen Wegen, die molekulare Identifikation einer neuen Gruppe von endogenen Neuropeptiden (de Lecea et al. 1998, Sakurai et al. 1998). Hierbei wurde nachgewiesen, dass der Syntheseort für diese neuen Neuropeptide im Hypothalamus liegt (Sakurai 2007). Sie nehmen eine zentrale Funktion in der Regulation von Wachheit, Essverhalten und Stoffwechsel ein, allesamt Faktoren, welche eine essenzielle Rolle bei der Beschaffung und dem anschließenden

Konsum von Nahrung darstellen (de Lecea et al. 1998, Sakurai et al. 1998, Sakurai 2007).

Die erste Arbeitsgruppe (de Lecea et al. 1998) isolierte zuerst das Vorläuferprotein Präpro-Orexin. Hieraus gelang es durch Proteolyse zwei Proteine zu gewinnen. Aufgrund der hypothalamischen Lokalisation und der strukturellen Ähnlichkeit zur Sekretin-Peptidfamilie nannten sie diese Proteine „Hypokretine“. Die zweite Gruppe (Sakurai et al. 1998) identifizierte Orexine als Liganden eines G-Protein-gekoppelten Rezeptors. Auf diesem Weg fanden die Forscher zwei hypothalamische Peptide, die zur Aktivierung von Zellen mit besagten Rezeptoren führten. Aufgrund der im Tiermodell unter Orexin-Gabe beobachteten Appetitsteigerung gaben sie diesen Proteinen den Namen Orexin A und Orexin B. „Orexin“ wurde vom griechischen Wort „Orexis“ abgeleitet, welches übersetzt „Appetit“ bedeutet.

1.2.2 Struktur

Orexine werden primär im lateralen Hypothalamus synthetisiert, enzymatisch wird hier Präpro-Orexin zu Orexin A bzw. Orexin B gespalten (Sakurai et al. 1998). Dabei besteht Orexin-A aus 33 Aminosäuren und hat eine in sich gebogene, durch Disulfidbrücken fixierte Struktur. Am N-Terminale Ende befindet sich ein Pyroglutamyl-Rest und am C-Terminale Ende eine Amidgruppe (Sakurai et al. 1998). Seine atomare Masse beträgt 3,5 kDa. Betrachtet man den Aufbau von Orexin-A, so findet sich sowohl bei Menschen, Ratten, Mäusen als auch bei anderen Säugetieren (z.B. Kuh, Schaf und Schwein) die gleiche Aminosäurenstruktur wieder (Sakurai et al. 1998). Im Gegensatz hierzu zeigt die Sequenz von Orexin B innerhalb verschiedener Spezies deutliche Unterschiede (Tsujino et al. 2009).

Orexin A und B stammen zwar von dem gleichen Vorläuferprotein (Präpro-Orexin) ab, unterscheiden sich jedoch in ihrer Struktur: Orexin A besitzt aufgrund seiner zwei Disulfidbrücken eine gebogene Struktur, wohingegen Orexin B ein lineares Peptid dargestellt. (Tsujino et al. 2009).

Im Vergleich zum linearen, aus 28 Aminosäuren bestehenden Orexin B hat Orexin A eine stärkere Aktivierung am ursprünglich entdeckten orphan-

Rezeptor (OX1R) zur Folge, was schließlich zur Entdeckung eines zweiten Rezeptors (OX2R) führte. Dieser zeigt eine unselektive Aktivität und wird sowohl von Orexin A als auch von Orexin B aktiviert (Sakurai et al. 1998).

Weitere Experimente führten zur Identifizierung eines selektiven OX1R-Antagonisten: SB-334867, bislang der einzige selektive OX1R Antagonist und Gegenstand aktueller Orexin und OX1R Forschungen (Smart et al. 2001). Ferner konnten im Tiermodell Neuropeptid Y und Sekretin als OX1R-Agonisten mit moderat bis hoher Affinität entdeckt werden, die Potenz der Stimulation war vergleichbar zu Orexin A (Kane et al. 2000). Allerdings konnte für NPY und Sekretin weder eine Interaktion mit dem menschlichen OX1R noch dem OX2R nachgewiesen werden.

1.2.3 Die Orexin-Neuronen

Die Zellkörper der Orexin-enthaltenden Neurone befinden sich hauptsächlich im lateralen Hypothalamus. Von dort aus projizieren sie ihre Axone auf das gesamte Gehirn, mit Ausnahme des Kleinhirns (Sakurai 2007). Histologisch lassen sich Orexine auch in olfaktorischen Neuronen nachweisen: Beginnend von der nasalen Mukosa, an deren Zilien die Geruchsstoffe binden, bis hin zu zentralen olfaktorischen Strukturen wie Bulbus olfactorius und Amygdala finden sich Orexin enthaltende Zellen (Caillol et al. 2003). Dies lässt vermuten, dass Orexine die olfaktorische Funktion in gewissem Ausmaß beeinflussen und regulieren können.

Im Rahmen von in situ-Hybridisierungen im ZNS zeigt sich eine unterschiedliche Verteilung von Orexinrezeptoren. OX1R mRNA findet sich v.a. in Arealen, welche die Nahrungsaufnahme regulieren; hier ist v.a. der laterale Hypothalamus als zentraler Regler von Hunger und Sättigkeit hervorzuheben. Im Vergleich dazu findet sich OX2R v.a. in Arealen, die wichtig für die Regulation von Wachheit und Aktivierung sind, u.a. in den dorsalen Raphe Kernen, dem Locus coeruleus und den histaminergen tuberomamillären Kernen (Marcus et al. 2001). Orexine weisen außerdem eine hervorzuhebende Eigenschaft unter der Vielzahl hypothalamischer Peptide auf: Sie vermögen sowohl die Ausschüttung des inhibitorischen Transmitters GABA, als auch des erregenden Neurotransmitters Glutamat zu verstärken, dies lässt auf einen bedeutenden

Einfluss hinsichtlich der Regulierung und Verarbeitung von sensorischen Reizen schließen (Van den Pol 1999).

Orexin-Neuronen verfügen über komplexe Beziehungen zu verschiedenen Arealen des Gehirns und können in Reaktion auf Hunger- und Sättigungssignale regulierend in den Stoffwechsel eingreifen. Im gesättigten Zustand führen endogene Signale, wie z.B. hohe Glucosekonzentrationen und Leptinspiegel als Indikatoren des Körpers bezüglich Sättigungsgefühl, zu einer Hemmung der Orexin-Neuronen. Dagegen stimulieren Hungersignale wie Ghrelin, niedrige Glucosespiegel oder Aminosäuren die Orexin-Neuronen (Inutsuka et al. 2013; Yamanaka et al. 2003a).

Es konnte gezeigt werden, dass Orexin-Neurone ihre Axone nicht nur auf das ZNS projizieren. Axonale Projektionen von Orexin-Neuronen finden sich auch auf Rückenmarksebene, v.a. im Bereich der Marginalzone, welche eine Rolle in der Modulation von Schmerz spielt (van den Pol 1999). Die Vermutung analgetischer Eigenschaften von Orexin A konnte im Tiermodell belegt werden (Bingham et al. 2001).

Zusätzlich befinden sich Orexine und ihre Rezeptoren in weiteren peripheren Geweben: Neben Ganglienzellen des Truncus sympathicus und des Plexus myentericus ließ sich Orexin A auch in endokrinen Zellen des Gastrointestinaltrakts sowie in den Inselzellen des Pankreas nachweisen. Experimentell gelang der Nachweis von Präpro-Orexin mRNA in Niere, Nebenniere, Magen, Ileum, Colon und kolorektalen Epithelzellen (Nakabayashi et al. 2003). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Orexine in einer Vielzahl von zentralen und peripheren Organen nachgewiesen werden konnten. Allerdings ist die Funktion der Orexine in den peripheren Geweben bislang noch nicht hinreichend erforscht (Heinonen et al. 2008).

1.3 Funktionen des Orexin-Systems

1.3.1 Aktivierungszustand

Die Verbindung zwischen Orexinen und der Regulation von Wachheit und Müdigkeit gehörte zu den ersten Ergebnissen der Orexinforschung und wird

besonders in Narkolepsie-Studien deutlich. Narkolepsie bezeichnet eine chronische Störung des Schlaf/Wach-Rhythmus und charakterisiert eine Hypersomnie zentralen Ursprungs. Ihre wesentlichen Symptome umfassen eine exzessive Tagesschläfrigkeit sowie Kataplexie, den Tonusverlust der Muskulatur im Affekt (Mayer 2006). Nach der Entdeckung der Orexine konnte in verschiedenen Versuchsmodellen eine Korrelation zwischen einem Orexin-Defizit und dem Auftreten von Narkolepsie nachgewiesen werden (Peyron et al. 2000).

Im Tiermodell weisen Mäuse, deren Prä-Pro-Orexin durch „Gen-Knockout“ gezielt inaktiviert wurde, ein verändertes Aktivitätsmuster auf: Die „Knockout“-Mäuse zeigen nach Orexin-Gen- „Knockout“, im Vergleich zur Kontrollgruppe, Narkolepsie-ähnliche Symptome. Pathophysiologisch lässt sich folglich das Auftreten des Phänotyps der Narkolepsie durch einen Orexin-Mangel, aufgrund fehlerhafter oder verminderter Neuronen im Hypothalamus, erklären (Chemelli et al. 1999). Übertragen auf klinische Studien kann man festhalten, dass die Orexinkonzentration über diagnostischen Wert verfügt. Somit ist eine verminderte Orexinkonzentration im Liquor von Patienten mit Narkolepsie ein hochsensitiver und –spezifischer Befund (Nishino et al. 2000). Neben der Narkolepsie kann der Orexin-Spiegel im Liquor bei myotoner Dystrophie (Martinez-Rodriguez et al. 2003), oder in manchen Fällen des Guillan-Barré Syndroms abnormal erniedrigt sein (Ripley et al. 2001).

Orexine spielen folglich eine integrale Rolle in der zentralen Regulation von Müdigkeit, Schlaf und Wachheit. Ihre Aktivierung führt zu einer vermehrten Stimulation von Neuronen, welche für Aktivitätsbereitschaft und Aufmerksamkeit verantwortlich sind (Kohlmeier et al. 2004).

1.3.2 Nahrungsaufnahme

Es gibt eine Vielzahl von Hormonen, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen. Eine wichtige Rolle spielt hierbei auch die von uns untersuchte Orexin-Familie. Orexin-Neurone finden sich überwiegend im lateralen Hypothalamus (Sakurai 2007). Der laterale Hypothalamus ist für die zentrale Regulation im Hinblick auf Stoffwechsel und Energieumsatz zuständig: In diesem Abschnitt laufen eine

Vielzahl an Informationen über den Energiehaushalt des Körpers zusammen und werden verarbeitet, wodurch Energieaufnahme und -verbrauch entsprechend beeinflusst werden (Berthoud et al. 2011).

Den lateralen Hypothalamus erreichen sowohl exogene gustatorische und olfaktorische Signale als auch endogene Signale und Botenstoffe, welche Auskunft über den Blutglucosespiegel und das Energieniveau geben (Berthoud 2011). Ein Zusammenhang zwischen den dort gelegenen Orexin-Neuronen und der Nahrungsaufnahme wurde bereits bei ihrer Entdeckung festgestellt (Sakurai et al. 1998).

In einer Vielzahl von Studien wurde die Hypothese überprüft, dass eine Orexin-Gabe eine Steigerung der Nahrungszufuhr zur Folge hat. Nach der intracerebroventrikulär Injektion von Orexin A in verschiedene Areale des Hypothalamus (u.a. den paraventriculären Nucleus, den dorsomedialen Nucleus und den lateralen Hypothalamus) ließ sich an Ratten eine gesteigerte Nahrungsaufnahme feststellen. Somit konnte eine Korrelation zwischen Orexin A und Nahrungszufuhr gezeigt werden (Dube et al. 1999; Sweet et al. 1999). Der nächste Schritt betraf den Nachweis, dass nicht nur die intrazerebrale Injektion von Orexin A die Nahrungsaufnahme beeinflusst, es galt die Funktion der endogenen Orexine bezüglich Ernährung zu belegen. Über die zentrale Gabe eines OX1R-Antikörpers ließ sich eine Unterdrückung der Nahrungsaufnahme provozieren und somit auf eine Verbindung der endogenen Orexine mit der Regulation von Nahrungszufuhr Rückschlüsse ziehen (Yamada et al. 2000). Hier lässt sich vermuten, dass Orexin A, als Hauptagonist am OX1R, diejenige Isoform sei, welche die Nahrungsaufnahme am meisten beeinflusst (Dube et al. 1999; Haynes et al. 2002).

Nähere Betrachtungen des Verhaltens im Tiermodell lassen vermuten, dass die vereinfachte Annahme „*Orexin A steigert die Nahrungszufuhr*“ nicht ganz richtig ist. Im Tiermodell führt die intracerebroventrikulär Applikation von Orexin A weniger zu einer simplen Steigerung der Nahrungsaufnahme mit nachfolgender Gewichtszunahme, sondern vielmehr wird die Regulation des Energiestoffwechsels in Abhängigkeit des Energieniveaus und

Brennstoffangebots beeinflusst (Lubkin et al. 1998).

Nahrungszufuhr bedeutet mehr als nur die Aufnahme von Brennstoffen in Form von Proteinen, Fetten und Kohlenhydraten für den Energiestoffwechsel. Appetit entsteht durch die Stimulation des Appetitzentrums im Hypothalamus mit Hilfe verschiedener Reize, wie z.B. dem Abfall des Glucosespiegels im Blut (Davidson et al. 1973) oder den Kontraktionen des leeren Magens (Ganong/Auerswald 1971). Physiologischerweise führt das Gefühl von Hunger zur Beigabe von Substraten bei Energiebedarf. Das Sättigungsgefühl verhindert bei ausreichenden Reserven eine übermäßige Zufuhr an Nahrung. Das Zusammenspiel dieser Stimuli soll zu einem konstanten Gewicht beitragen. Nahrungszufuhr über die Deckung des akuten Energiebedarfs hinaus führt zur Anlage von Energiespeichern. Der Körper entwickelt Fettreserven und nimmt an Gewicht zu (Rehner et al. 2010). Verschiedene Stressoren können ein emotional bedingtes Essverhalten auslösen, dies kann sowohl eine Steigerung oder Reduzierung der Nahrungszufuhr umfassen. Menschen mit Übergewicht, so die Hypothese, vermögen die physiologischen Stimuli Hunger und Sättigung nicht richtig zu deuten und essen unabhängig der Signale ihres Energiehaushalts (Canetti et al. 2002). Neben der sensorischen Komponente „Geschmack“ und der Aktivierung des intrinsischen Belohnungssystems, spielt bei der Nahrungsaufnahme zusätzlich auch eine hedonische Komponente eine Rolle (Saper et al. 2002).

Orexine vermögen eine Verbindung zwischen der Zufuhr von Energie in Form von Nahrung und zentralen sensorischen Belohnungseffekten zu schaffen. Dies spricht für eine Rolle und zukünftigem Ansatzpunkt der Orexine hinsichtlich der Regulation von Belohnungs- und Suchtverhalten (Harris et al. 2005).

Die Auswahl unserer Nahrungsmittel aus der Vielzahl an verschiedenartig zusammengesetzten kalorienhaltigen Speisen, wird maßgeblich von zentralen Mechanismen beeinflusst, welche unsere Vorlieben und unser Verlangen nach Nahrung bedingen. Mikroinjektionen von Orexin A in das ventrale Pallidum von Ratten führen diesbezüglich nach oral zugeführter Saccharose zu einer verstärkten hedonischen Nahrungszufuhr (Ho et al. 2013).

Auch in Reaktion auf köstliches Essen, bzw. auf damit assoziierte Signale,

weisen Orexin-Neurone eine ausgedehnte Aktivität auf (Choi et al. 2010). Im Tiermodell führt die intracerebroventrikulär Gabe von Orexin A zu einer erhöhten Zufuhr an schmackhaften fettreichen Speisen (Kay et al. 2013). Höchstwahrscheinlich liegt diesem Effekt weniger ein gesteigertes Verlangen nach Nahrung, sondern vielmehr eine Dämpfung der endogenen sättigenden Signale zugrunde (Terrill et al. 2016).

Weiterhin zeigt sich unter Fastenbedingungen im Tiermodell eine Hochregulierung der Präpro-Orexin mRNA (Sakurai et al. 1998) Dies lässt darauf schließen, dass die Kombination aus niedrigem Glucosespiegel und fehlender Nahrungszufuhr als Stimulus für die Orexin-Neurone dient. Orexin-Neurone reagieren empfindlich auf metabolische Energiedefizit-Signale. So können Veränderungen des Energiehaushalts aufgrund des Abfalls des Blutglucosespiegels, über eine Orexin-vermittelte Stimulation der Nahrungszufuhr, ausgeglichen werden (Cai et al. 1999).

1.3.3 Glucosehomöostase

Die Glucosekonzentration im Körper wird von einem strengen Regelwerk unter dem Zusammenspiel mehrerer Faktoren im euglykämischen Bereich (60 – 180 mg/dl) gehalten. Hormonell spielen Insulin und Glukagon eine wichtige Rolle (Danne 2016). Das Aktivitätsniveau des Körpers wird durch endokrine sowie autonome Stimuli reguliert. Gleichzeitig wird das Energiegleichgewicht durch das Zusammenspiel von Energiezufuhr (in Form von Nahrung) und Energieverbrauch im Rahmen verschiedener Prozesse gewahrt. Im lateralen Hypothalamus laufen die verschiedenen Signalwege zusammen und werden zum Wohle des Energiehaushalts verarbeitet. Der Glucosespiegel wird überwacht und im Falle einer Änderung entsprechende metabolische und verhaltensbedingte Entscheidungen getroffen, um das Energieniveau im Gleichgewicht zu halten (Kalsbeek et al. 2010).

Ernährungsstatus und Nahrungsangebot hängen über verschiedene Signalwege mit dem Aktivitätsniveau zusammen. An dieser Stelle sind Glucose-sensitive Neurone zu nennen, die den Glucosespiegel messen und Rückmeldung an das ZNS liefern. Im Fastenzustand ließen sich zentral erhöhte Spiegel an

OX1R mRNA nachweisen (Lu et al. 2000). Jedoch enthalten Glucose-sensitive Neuronen kein Orexin, vielmehr werden sie von Orexin im Hungerzustand stimuliert (Mizuno et al. 1984). Eine Stimulation des lateralen Hypothalamus führte im Tiermodell, unabhängig des Plasmainsulinspiegels, zu einer gesteigerten Glucoseaufnahme in den peripheren Geweben (Sudo et al. 1997). Orexin-Neurone werden nicht nur im Rahmen des Glucosebedarfs aktiviert, sondern ebenfalls gemäß einem zirkadianen Rhythmus mit Spitzenkonzentrationen gegen Ende der aktiven Periode und Tiefwerten am Ende der Schlafperiode ausgeschüttet (Desarnaud et al. 2004). Auch peripher im enterischen Nervensystem und Pankreasgewebe konnten Orexine nachgewiesen werden. Diese vermögen den Verdauungstrakt für die Aufnahme von Nahrung, durch Regulation der Sekretion und Beeinflussung der Motilität, vorzubereiten (Kirchgessner et al. 1999). Tiermodelle in der Diabetesforschung konnten eine gesteigerte Inselzell-Leistung und verbesserte Glucosehomöostase unter Orexin A in vitro nachweisen (Kaczmarek et al. 2017).

Insulin aktiviert die Verwertung und Speicherung von Glucose in den insulinabhängigen Organen (Muskulatur, Fettgewebe und Leber). Glukagon stimuliert die Gluconeogenese und Glycogenolyse. Glucose reguliert die Freisetzung von Orexin A aus Inselzellen des Pankreas. Niedrige Glucosespiegel stimulieren die Orexin-Freisetzung und die Glukagon-Ausschüttung. Fastenbedingungen führen gleichermaßen zu einer erhöhten Orexin-Freisetzung. Orexin A wird von den Inselzellen des Pankreas freigesetzt und beeinflusst, abhängig von der Glucosekonzentration, die Freisetzung der endogenen Hormone Insulin und Glukagon. Extrazelluläres Orexin A führte zu einer gesteigerten Glukagon-Freisetzung und zu einer verminderten Glucose-stimulierten Insulin-Ausschüttung (Ouedraogo et al. 2003). Eine akut erhöhte Glucosezufuhr, gefolgt von exogener Applikation von Orexin A sorgte für eine Senkung des Blutglucosespiegels aufgrund erhöhter Insulinspiegel und erniedrigter Glukagonkonzentrationen (Park et al. 2015). Ein Orexin-Gen „Knockout“ führte zu Narkolepsie, Hypophagie und Übergewicht (Hara et al. 2001). Orexin „Knockout“ Mäuse waren zudem anfälliger für die altersbedingte

Entwicklung peripherer Insulinresistenz (Tsuneki et al. 2009). Orexindarbietung führte zu einem verminderten Auftreten von Übergewicht und Insulinresistenz. Dieser protektive Effekt scheint auf einer Orexin-vermittelten gesteigerten Leptin-Empfindlichkeit zu beruhen. OX1R vermittelte Effekte scheinen permissiv auf die alters- und ernährungsbedingte Insulinresistenz zu wirken, allerdings spielen Orexinlevel, Zeitpunkt der Gabe und auch OX2R vermittelte Signale eine weitere noch nicht vollständig bekannte Rolle (Funato et al. 2009). Dem stimulierenden Einfluss auf die Nahrungsaufnahme, liegt potentiell eine Inhibition anorexigener Pro-Opiomelanocortin (POMC)-Neuronen mit gleichzeitiger Stimulation orexigener Neuropeptid Y enthaltenden Neuronen zugrunde (Muroya et al. 2004).

Ältere Tiere zeigten im Vergleich zu jüngeren Exemplaren im Tiermodell eine verringerte Orexin-Konzentration im Liquor, bei vorhandener ungestörter circadianer Ausschüttung, v.a. nach der aktiven Periode. Funktionell bedeutet dieser moderate Orexin-Mangel einen verminderten Wachheits-Zustand und kann zu vermehrter Tagesschläfrigkeit beitragen, wie sie beispielsweise bei Senioren im Tagesverlauf beobachtet werden kann, im Gegensatz zur Narkolepsie, welche mit absolutem Orexin-Mangel einhergeht (Desarnaud et al. 2004).

Patienten mit Diabetes mellitus Typ II wiesen in klinischen Studien eine inverse Korrelation zwischen Orexin-Konzentrationen im Serum und Insulinresistenz auf. Nach dreimonatiger antidiabetischer Therapie kam es mittels verbesserter Glucose Einstellung, Vermeidung von Hyperglykämien und verringerter Insulinresistenz, zu erhöhten Orexinkonzentrationen (Zarifkar et al. 2017).

Der Zusammenhang zwischen Orexin und Übergewicht ist komplex. Studien bezüglich einer Korrelation des Orexinspiegels und dem Auftreten von Adipositas waren inkonsistent (Zarifkar et al. 2017). Narkolepsie-Patienten mit Orexin-Defizit wiesen BMI unabhängige metabolische Abweichungen auf, einschließlich Insulinresistenz (Poli et al. 2009).

Die Schwere des Orexin-Defizits von Patienten mit Narkolepsie ermöglicht

eine Vorhersage bezüglich des Auftretens und der Schwere der Tagesschläfrigkeit zu treffen. Narkolepsiepatienten mit Kataplexie wiesen bei nachgewiesenem Orexinmangel wesentlich häufiger eine schwerwiegendere Symptomatik, als die Kontrollgruppe mit normwertigen Orexinspiegeln, auf (Baumann et al. 2006). Zusätzlich konnte an Narkoleptikern als häufige Komorbidität die Adipositas beobachtet werden. Genauere Untersuchungen des Stoffwechsels ergaben, dass eine normokalorische Ernährung bei einem niedrigeren Grundumsatz zur Gewichtszunahme führt (Dahmen et al. 2009). Orexin führt konsequenterweise nicht nur zu einer gesteigerten Nahrungszufuhr, sondern beeinflusst gleichzeitig den Grundumsatz. Orexin-Defizit führt über eine Dysfunktion des braunen Fettgewebes zu einer adipogenen Wirkung. Dies verdeutlicht die zentrale Stellung der Orexin-Peptide in der Regulation des Energiehaushalts und Gewichtsregulation über die Stimulation der Kälte- oder Ernährungsinduzierten Thermogenese des braunen Fettgewebes (Sellayah et al. 2012).

Dem Orexindefizit aufgrund Neuronschädigung oder fehlerhafter Neurone liegt vermutlich ein autoimmuner Prozess zu Grunde. Zukünftige therapeutische Optionen wären die Substitution von Orexin oder der Beginn immunbasierter Therapien, um den autoimmunen Prozess zu stoppen (Barateau et al. 2016).

Es bleibt unklar, inwiefern die Applikation von Orexin als Therapeutikum bei Narkolepsie Linderung verschafft. Bisher gelang nach Applikation nur eine unzureichende Passage des Orexins über die Blut-Hirn-Schranke. In vitro ließen sich bei Diabetes mellitus Typ II verbesserte metabolische Parameter unter Orexin A nachweisen, höchstwahrscheinlich aufgrund einer Aktivierung des braunen Fettgewebes (Kaczmarek et al. 2017). Zusätzlich bleibt nur die Studienlage abzuwarten, inwieweit sich die Einstellung des Glucosehaushalts beim Diabetiker und das Orexin-System gezielt zu therapeutischen Effekten verknüpfen lassen.

1.3.4 Olfaktion

Die olfaktorische Wahrnehmung beeinflusst zusammen mit dem endokrinen System die Nahrungswahl und -aufnahme. Im Tiermodell ließen sich Orexine in

jedem Abschnitt des olfaktorischen Systems nachweisen, angefangen von den Zilien, bis hin zu zentralen Hirnarealen, in denen die Informationen verarbeitet werden (Caillol et al 2003). Unter Orexin-Einfluss wiesen Ratten ein verbessertes Geruchsvermögen auf, dies zeigte sich besonders unter Fastenbedingungen (Aimé et al. 2007; Juilliard et al. 2007). Gleichzeitig spielt auch der Ernährungsstatus eine wichtige Rolle für die olfaktorische Wahrnehmung: im Bulbus olfactorius ließ sich der insulinabhängige Glucosetransporter (GLUT4) nachweisen (El Messari et al. 1998). Bestärkt wird dies durch aktuelle Studien, in denen Mitralzellen, Neurone, die die Verbindung zwischen Peripherie und zentralnervösen Strukturen schaffen, als Glucosesensoren identifiziert werden konnten (Tucker et al.2010).

Die molekularen Mechanismen, die angefangen von der Wahrnehmung des Ernährungsstatus bis hin zur zentralnervösen Verarbeitung dieser Signale ablaufen, sind trotz einer Vielzahl an Studien nur teilweise bekannt.

Im ZNS verläuft die Glucoseaufnahme hauptsächlich mittels der Glucosetransporter (GLUT) und dem Natrium/Glucose-Co-Transporter (SGLT). Gesättigte Ratten wiesen erhöhte Insulinspiegel, sowie eine erhöhte Expression des insulinabhängigen Glucosetransports GLUT4 auf (Al Koborssy et al. 2014). Inwiefern sich olfaktorische Stimuli mit Orexin verknüpfen lassen, ist bislang noch unzureichend erforscht.

Orexin-Neurone finden sich v.a. im lateralen Hypothalamus, in den olfaktorischen Zentren sowie im limbischen System (Peyron et al. 1998). Die genauen Wege der Signalübertragung sind noch unbekannt. Möglicherweise führt eine olfaktorische Stimulation über eine Aktivierung der Orexinausschüttung und zentraler Belohnungszentren zu einer erhöhten Nahrungszufuhr.

Die olfaktorische Dysfunktion ist eine relativ neu beobachtete Symptomatik an Narkoleptikern mit Kataplexie. Der gestörte Orexin-Signalweg führt bei Betroffenen zu einer verschlechterten olfaktorischen Leistung. Nach Substitution von Orexin A wiesen die Patienten eine verbesserte olfaktorische Leistung auf (Baier et al. 2008). Olfaktion beeinflusst auch unseren Appetit und somit unsere Nahrungsauswahl, eine Störung hat folglich Auswirkungen auf den Nahrungskonsum (Stetter et al. 1995). Zuvor gesättigte Patienten mit

Narkolepsie wiesen eine Desensitivierung gegenüber endogener Sättigungssignalen auf, dies äußerte sich in einem erhöhten Konsum und einer gestörten Appetitregulation (Van Holst et al. 2016). Vorherige Studien belegen zudem eine hohe Prävalenz von Essstörungen mit Heißhunger-Anfällen bei Narkoleptikern (Fortuyn et al. 2008).

Verbesserte Leistung der Glucosesensoren könnte zu einer verminderten Prävalenz von Übergewicht und Typ II Diabetes führen. Möglicherweise vermögen an dieser Stelle Mitralzellen regulierend in die synaptische Übertragung olfaktorischer Reize eingreifen.

Die Abwesenheit von Orexin, als Mediator der Energiehomöostase im ZNS, scheint die adäquate Antwort auf Signale aus der Peripherie zu stören. Heißhungeranfälle, die bei Narkoleptikern beobachtet werden konnten, sind somit Zeichen einer gestörten Energiehomöostase (Van Holst et al. 2016). Es bleibt auf weitere Ergebnisse zu warten, eine Verknüpfung olfaktorischer und Sättigungssignale ist auf jeden Fall denkbar.

1.4 Die Methode der intranasalen Neuropeptidgabe

Aus diversen Studien wurde ersichtlich, dass intranasal applizierte Hormone die Blut-Hirn-Schranke passieren können (Born et al., 2002). Die Blut-Hirn-Schranke stellt für Medikamente ein bedeutsames Hindernis dar. Ihre Barriere Funktion schützt einerseits das Gehirn vor toxischen Stoffen, verhindert aber andererseits den Übertritt von systemisch verabreichten Medikamenten in das zentrale Nervensystem (Zlokovic 2008). Die intranasale Applikation zeigt in diesem Fall ihre Vorteile: Zum einen schafft sie es, die Blut-Hirn-Schranke zu umgehen und Nebenwirkungen zu minimieren. Zusätzlich wird die systemische Exposition gegenüber dem verabreichten Medikament reduziert und die Wirkung kann gezielt geprüft werden (Dhuria SV et al. 2009). Nicht zuletzt stellt sie eine schmerzlose und non-invasive Darreichungsform dar.

Die physiologisch vorliegende Konzentration von Orexin A im Plasma liegt bei 106.56 ± 52.09 ng/L (Hao et al. 2017). In der zugrunde liegenden Arbeit wurde eine Konzentration von 500 nmol Orexin A (1.781 mg C152H243N47O44S4 Acetat Salz, gelöst in 2,3 ml Aqua), hergestellt von der Firma Bachem (Bubendorf, Schweiz), gewählt. Diese wurde intranasal über eine handelsübliche

Nasensprayflasche appliziert. Als Placebo-Lösung wurde die entsprechende Menge Aqua verwendet. In vergangenen Studien zeigte sich, dass diese Menge bei intranasaler Applikation von Orexin A ausreicht, um in klinischen Studienmodellen Effekte bei Menschen zu erzielen (Baier et al. 2011, Ehrstöm et al. 2004). Intranasale Pathologien können die Applikation und Resorption der Peptide negativ beeinflussen (Jones et al. 1997), dementsprechend wurden diese in der vorliegenden Studie anamnestisch zuvor ausgeschlossen.

1.5 Fragestellung

Orexine sind exzitatorische Neuropeptide, die primär im lateralen Hypothalamus sezerniert werden und ihre Effekte sowohl im ZNS als auch in der Körperperipherie ausüben. Die Aktivierung des Orexin-Systems führt im Tiermodell zu einer Steigerung der Nahrungsaufnahme und einer Anhebung des Aktivierungsniveaus. Orexine wirken darüber hinaus kurz- und langfristig auf die Glucosehomöostase, indem sie die Insulinsensitivität verbessern. Dieser Effekt scheint über eine Interaktion von zentralen und peripheren Signalwegen vermittelt zu werden. Orexine führen zudem zu einer Steigerung des Grundumsatzes durch eine Hochregulation des zellulären Metabolismus. Schließlich zeigen weitere Studien, dass Orexine die olfaktorische Reizverarbeitung beeinflussen. All diese Erkenntnisse wurden jedoch beinahe ausschließlich im tierexperimentellen Setting erbracht. Die vorliegende Studie untersuchte deshalb die akute Wirkung der Gabe von Orexin A (Hypokretin-1) auf die Stoffwechselfunktionen im gesunden Menschen.

Ziel dieser Arbeit war es zum einen, die akute Wirkung von intranasal verabreichtem Orexin A auf die Blutzuckerregulation zu untersuchen. Es wurde angenommen, dass es im Rahmen eines oralen Glucose-Toleranztests (oGTT) nach der Gabe von Orexin A zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität mit entsprechender Dämpfung der Glucose- und Insulinkonzentrationen kommt. Zum anderen wurde bestimmt, ob Orexin A den Grundumsatz steigert und eine Erhöhung der Nahrungszufuhr auslöst. Zusätzlich wurden subjektive Parameter wie Sättigungsgefühl und Nahrungspräferenz gemessen. Es wurde erwartet, dass unter Orexineinfluss eine gesteigerte Kalorienzufuhr bei erhöhtem Appetit

und Verlangen auftritt. Darüber hinaus wurde untersucht, ob Orexin A eine verbesserte olfaktorische Leistung mit geänderter Präferenz hinsichtlich der angebotenen Zwischenmahlzeiten mit unterschiedlichen Kalorienwerten bedingt. Bekannterweise können olfaktorische Reize über eine Verhaltensmodulation unseren Nahrungskonsum beeinflussen, so dass von Interesse war, inwiefern Orexine hier eine Rolle spielen. Da den Orexinen bereits eine aktivitäts- und aufmerksamkeitssteigernde Wirkung zugeschrieben worden ist, wurde ebenso untersucht, ob Probanden nach der Gabe von Orexin A eine Steigerung der Vigilanz erfahren.

Diese Fragen wurden an einer Stichprobe junger, gesunder männlicher Probanden untersucht, denen eine einmalige Dosis von 500 nmol Orexin A auf dem intranasalen Weg verabreicht wurde.

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Es wurden 19 männliche normalgewichtige Personen im Alter von 18-35 Jahren (MW 22,89 ± 0,63) untersucht, Normalgewicht wurde mit einem durchschnittlichen BMI 22,42 ± 0,33 kg/m² festgelegt. Die Teilnehmer waren allesamt gesunde Nichtraucher und wiesen einen BMI < 25 auf. Sie hatten weder Vorerkrankungen, noch nahmen sie regelmäßig Medikamente ein. Um zyklusbedingte Schwankungen der olfaktorischen Leistung und der Hormonspiegel im Blut auszuschließen, waren Frauen von der Versuchsteilnahme ausgeschlossen. Die Untersuchung wurde von der Ethikkommission der Universität Tübingen genehmigt (Az 025/2013BO1, Bescheid vom 25.4.2013).

Die Versuchsteilnehmer wurden sowohl mündlich als auch schriftlich über potenzielle Risiken und Folgen der Versuchsteilnahme aufgeklärt und erteilten ihr schriftliches Einverständnis zur Durchführung des Experiments. Anschließend wurde eine zeitnah vor dem eigentlichen Experiment gelegene Voruntersuchung durchgeführt. Mittels Anamneseerhebung, körperlicher Untersuchung und Abnahme von verschiedenen Blutparametern (Erythrozyten, Leukozyten, Hämatokrit, Natrium, Kalium, GOT/GPT, Glucose, Laktat, TSH, HbA1c) wurden die Teilnehmer ausführlich auf ihre Eignung bezüglich des Experiments getestet.

Um eine Verzerrung der Ergebnisse zu vermeiden, wurden die Probanden im Vorfeld nicht über die Messung des Essverhaltens informiert, sondern erst im Anschluss über diesen Aspekt des Experiments aufgeklärt. Die betreffenden Tests wurden im Rahmen des jeweiligen Versuchstages in eine Reihe anderer Erhebungen eingebettet. Die Teilnehmer erhielten nach Abschluss des Experiments 100,- € als Aufwandsentschädigung.

2.2 Studiendesign

Es handelte sich um eine zwei Versuchstage umfassende randomisierte, doppelblinde Studie, die im within-subject-Design durchgeführt wurde. Somit stellte jeder Proband seine eigene Kontrolle dar. Nachdem die Teilnehmer in der

Voruntersuchung als gesund eingestuft werden konnten, durchlief jeder von ihnen 2 Versuchstage mit einem Zeitaufwand von je ca. 7 Stunden. Die beiden Versuchstage lagen mindestens 2 Wochen auseinander.

In der Verum-Bedingung erhielten die Versuchsteilnehmer intranasal appliziertes Orexin A (500 nmol, entspricht 1,78 mg gelöst in 2,3 ml aqua ad iniectabilia), in der Kontroll-Bedingung Placebo (aqua). Unter Berücksichtigung des aus technischen Gründen in Sprühaufsatz und Flasche verbleibenden Restvolumens betrug die effektive intranasal aufgenommene Dosis etwa 430-450 nmol.

2.3 Versuchsablauf

Den Probanden wurde aufgetragen, am Vortag des Versuchs ab 20:00 Uhr bis auf die Zufuhr von Wasser nüchtern zu bleiben und bis spätestens 22:30 Uhr zu Bett zu gehen. Am Versuchstag selbst trafen sie um 7:00 Uhr im Schlaflabor des Instituts für medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie ein. Nach erneuter Verifizierung der Einwilligung wurde eine Venenverweilkanüle angelegt, über die im Laufe des Experiments Blutproben gewonnen werden konnten. Diese dienten der späteren Bestimmung von Hormon- und Blutzuckerkonzentrationen. In der Grundlinienphase konnten sich die Probanden in einem schallgedämpften Raum entspannen und es wurden die Ausgangskonzentrationen der endokrinen Werte und Blutzuckerparameter bestimmt. Zudem erfolgte der erste Durchlauf der Kalorimetrie, der kognitiven Tests und der olfaktorischen Tasks (Tabelle 1). Im Anschluss erfolgte über einen Zeitraum von 10 min die intranasale Applikation der Orexin A- bzw. Placebo-Lösung. Die Probanden erhielten um 9:15 Uhr intranasal eine Lösung verabreicht, die entweder Orexin A oder Placebo enthielt.

Anschließend tranken die Teilnehmer um 10:00 Uhr eine mono- und oligosaccharidhaltige Lösung, um den oGTT zu beginnen. Alsdann wurde erneut mittels indirekter Kalorimetrie der Energieverbrauch gemessen. Nach Beginn des oGTT erfolgte die erste venöse Blutabnahme, anschließend wurden 10, 20, 30, 60, 90 und 120 min nach Start weitere Blutabnahmen durchgeführt. Insgesamt umfasste das entnommene Blutvolumen ca. 280 ml pro Versuchstag. Im zeitlichen Zusammenhang mit den Blutabnahmen erfolgte die Messung von

Blutdruck und Puls, um einen Überblick der Kreislaufparameter der Versuchsteilnehmer über den Versuchstag zu erhalten. Hierzu wurde ein handelsübliches vollautomatisches oszillometrisches Blutdruck-Messsystem verwendet.

Zusätzlich erfolgte in regelmäßigen Abständen die Durchführung der kognitiven und olfaktorischen Tests. Um 13:05 Uhr erhielten die Probanden ein kleines kohlenhydrathaltiges Mittagessen (handelsübliche Pizza Margherita, 217 kcal pro 100 g). Anschließend wurden sie bei euglykämischen Werten und subjektivem Wohlbefinden entlassen und zur erneuten Testung nach einem mindestens 2 Wochen umfassenden Zeitraum wieder einbestellt. Während der Versuchsdurchführung war weder körperliche Aktivität, Rauchen noch zusätzliche Nahrungsaufnahme gestattet.

***Tabelle 1:** Schematische Darstellung des Versuchsablaufs. Es wurden verschiedene Tests während des Versuchstages durchgeführt: BIA: Bioelektrische Impedanzanalyse, LFPQ: und Leeds Food Preference Questionnaire, MDBF: Multidimensionaler Befindlichkeitsfragebogen, oGTT: oraler Glucosetoleranztest, PFS: Power-of-Food-Scale- Fragebogen, VAS: Visuelle Analogskala*

Uhrzeit	Tests/Maßnahmen
7:30	Anamnese, BIA, Braunülenanlage
8:00 – 9:15	Digit Span 1, Sniffin' Sticks 1, Vigilanztest 1, VAS 1, MDBF 1 Kalorimetrie 1 Blutentnahme 1, Blutdruck und Pulsmessung 1, Blutentnahme 2, Blutdruck und Pulsmessung 2
9:15	Orexin/Placebo-Gabe
9:25 - 10:00	Blutentnahme 3, Blutdruck und Pulsmessung 3 Sniffin' Sticks 2 Vigilanztest 2, VAS 2, MDBF 2
10:00	oGTT Blutentnahme 4, Blutdruck und Pulsmessung 4
10:05	Kalorimetrie 2
10:10	Blutentnahme 5, Blutdruck und Pulsmessung 5
10:20	Blutentnahme 6, Blutdruck und Pulsmessung 6

10:30	Blutentnahme 7, Blutdruck und Pulsmessung 7
10:50	Digit Span 2
11:00	Vigilanztest 3, Blutentnahme 8, Blutdruck und Pulsmessung 8
11:05	VAS 3, MDBF 3
11:30	Digit Span 3 Blutentnahme 9, Blutdruck und Pulsmessung 9
11:45	VAS 4, MDBF 4
12:00	Digit Span 4 Blutentnahme 10, Blutdruck und Pulsmessung 10
12:10	Vigilanztest 4
12:15	VAS 5, MDBF 5
12:20	Power of Food Scale
12:30	Digit Span 5 Blutentnahme 11, Blutdruck und Pulsmessung 11
12:40	Vigilanztest 5
12:45	VAS 6, MDBF 6
12:50	Sniffin' Sticks 3
13:00	Blutentnahme 12, Blutdruck und Pulsmessung 12
13:05	Kalorienreiches Mittagessen (Pizza)
13:20	LFPQ
13:30	VAS 7, MDBF 7
13:35	Snacktest
13:45	Vigilanztest 6

2.4 Messinstrumente

Im Rahmen des Versuchs wurden folgende Tests durchgeführt: Bioimpedanzanalyse (BIA) zur Bestimmung des Ernährungszustands, oGTT zur Testung des Glucosestoffwechsels, indirekte Kalorimetrie zur Messung des Energieumsatzes, Fragebögen bezüglich des subjektiven Verlangens nach Nahrungsmitteln (Leeds-Food-Preference-Questionnaire) und Befinden (visuelle Analogskalen (VAS), mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen). Zur Evaluation der olfaktorischen Leistung erfolgte ein Geruchstest (Sniffin' Sticks

Test). Die Gedächtnisleistung wurde via Digit Span Test, die Reaktionsbereitschaft mittels Vigilanztests getestet.

2.4.1 Glucosestoffwechsel

2.4.1.1 Blutentnahmen und Hormonbestimmung

Den Versuchsteilnehmern wurde zu Beginn eine Venenverweilkanüle (B. Braun Vasofix Safety 20G) gelegt. Durch diese Kanüle wurde über den Versuchstag verteilt, Blutproben entnommen. Nach jeder Blutentnahme wurde die Venenverweilkanüle mit 0,9%iger NaCl Lösung gespült, um einen Verschluss des Lumens zu verhindern. Um Verfälschungen der Hormon- und Blutzuckerkonzentrationen durch Verdünnung (aufgrund der in der Venenverweilkanüle verbleibenden Spülflüssigkeit) zu vermeiden, wurden vor jeder folgenden Blutentnahme 6 ml Schlauchvolumen mittels einer Spritze entnommen und verworfen. Die Glucosekonzentration wurde direkt aus dem venösen Blut durch einen Schnelltest bestimmt und zusätzlich im Labor aus den befüllten Fluoridmonovetten (Sarstedt S-Monovette Glucose / Fluorid 2,7ml) ausgewertet. Es wurden weiterhin Serummonovetten (Sarstedt S-Monovette 9 ml Z-Gel), EDTA-Monovetten (Sarstedt S-Monovette 9 ml Z) und EDTA-Monovetten (Sarstedt S-Monovette 2,7 ml Z) verwendet.

Nach Versuchsende wurden die Monovetten zentrifugiert und das Plasma mittels Pipette auf Eppendorfmonovetten verteilt. Diese wurden bei -80°C eingefroren, um später im Labor die Hormonkonzentrationen bestimmen zu können.

Zur Hormonbestimmung aus dem gefrorenen Plasma wurden folgende Laborgeräte der Firma Siemens Healthcare Diagnostics (Eschborn, Deutschland) verwendet: Mittels ADVIA Chemistry XPT System wurden die Konzentrationen von Glucose und Laktat aus dem Fluoridplasma bestimmt. Zur Bestimmung von Insulin, C-Peptid und Cortisol Konzentrationen wurde das ADVIA Centaur XPT Immunoassay-System verwendet. Die Messung von Wachstumshormon und ACTH erfolgte über das Immulite 2000 XPi Immunoassay-System. Des Weiteren wurde zur NEFA-Bestimmung im Plasma

nach der ACS-ACOD Methode (NEFA-HR (2), Wako Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland) das ADVIA Chemistry XPT System verwendet.

2.4.1.2 Oraler Glucosetoleranztest (oGTT)

Der oGTT dient der Messung der Glucosetoleranz und wurde in der vorliegenden Arbeit angewendet, um die mögliche Wirkung von Orexin A auf den Glucosestoffwechsel zu untersuchen. Die Probanden unterzogen sich morgens nüchtern einer basalen Blutentnahme über die Venenverweilkanüle zur Feststellung des Blutzuckerwertes. Danach wurde ihnen im nüchternen Zustand 300ml Saft (Accu-Chek Dextrose O.G-T) peroral verabreicht. Darin enthalten waren 75 g eines Mono- und Oligosaccharid-Gemischs. Die Probanden lagen während des Versuchs in halbaufrechter Haltung auf einer Liege. In regelmäßigen Abständen (0 min, 10 min, 20 min, 30 min, 60 min, 90 min und 120 min nach Start des OGTT) wurde den Versuchsteilnehmern venöses Blut zur Bestimmung des Blutzuckerspiegels und endokriner Parameter abgenommen (s.o. Versuchsablauf). Nach Ende des Tests erhielten die Probanden eine kohlenhydratreiche Mahlzeit (Pizza Margherita), um Unterzuckererscheinungen vorzubeugen.

Parallel zu den venösen Blutabnahmen wurde der Blutzuckerspiegel der Probanden durch ein handelsübliches Gerät mit Blutzucker-Teststreifen (ACCU-Chek Aviva) überwacht. Aus den im oGTT ermittelten Werten wurde der Insulinsensitivitätsindex nach Cederholm ermittelt. Dieser repräsentiert sowohl die periphere Insulinsensitivität als auch die muskulär aufgenommene Glucosekonzentrationen (Cederholm et al. 1990).

$$ISI \text{ Cederholm} = \frac{(75000 + (Glucose \text{ nüchtern} - Glucose \text{ 120}) \times 1,15 \times 180 \times 0,19 \times KG)}{120 \times \log(MW \text{ Insulin}) \times MW \text{ Glucose}}$$

Index nach Cederholm: Glucose nüchtern: Nüchternlucosekonzentration, Glucose 120: Glucosekonzentration zum Zeitpunkt der Blutentnahme nach 120 min, Glucosekonzentrationen jeweils in mmol/l, KG=Körpergewicht in kg, MW Insulin= Mittelwert der Insulinkonzentrationen zur jeweiligen Zeit des oGTT, in mIU/l, MW Glucose= Mittelwert der Glucosekonzentrationen zur jeweiligen Zeit des oGTT (nach Cederholm et al. 1990)

2.4.2 Energiehaushalt

2.4.2.1 Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA)

Die bioelektrische Impedanzanalyse analysiert über einen schwachen Wechselstrom die Körperzusammensetzung. Dies geschah durch die Messung von Widerständen an Hand und Fuß der dominanten Seite (Pirlich et al. 2010) über ein BIA Gerät (Nutriguard-M, Data Input).

Vor Versuchsbeginn wurden die Probanden gebeten, sich ruhig und bequem auf den Rücken zu legen. Die Arme und Beine wurden in einem Winkel von ca. 30° abgespreizt gelagert, ohne dass sie Kontakt zum restlichen Körper aufwiesen. In einer 10 min dauernden Ruhephase wurde erfragt, zu welcher Uhrzeit die letzte Nahrungsaufnahme stattfand und wann sie sich die vorherige Nacht schlafen gelegt hatten. Diese Zeit wurde benötigt, um eine gleichmäßige Verteilung des Blutvolumens zu gewährleisten und optimale Messbedingungen zu schaffen. Vor Anbringen der Elektroden wurde die Haut mit einem alkoholhaltigen Desinfektionsspray entfettet.

Mittels BIA wurden nicht-invasiv die fettfreie Körpermasse und die Gesamtmenge des Körperwassers bestimmt (Data Input, Gebrauchsanleitung Nutriguard-M). Messungen erfolgten bei niedriger, mittlerer und hoher Frequenz: Bei 5 kHz wurden Resistance und Phasenwinkel gemessen und es wurde das extrazelluläre Wasser bestimmt. Bei 50 kHz und 100 kHz wurde zusätzlich die Reaktanz bestimmt. Bei 50 kHz wurden das Körperwasser und die Körperzellmasse (BCM) bestimmt (Data Input, Gebrauchsanleitung Nutriguard-M). Die Auswertung erfolgte durch die zugehörige Software NutriPlus. Es wurden Werte für Körperwasser, fettfreie Masse, Magermasse, Fettmasse, Körperzellmasse und extrazelluläre Masse erhoben. Zusätzlich wurde der Zellanteil in Prozent errechnet. Für den Zellanteil gilt ein Normalbereich für Männer: 53% - 59% (Data Input GmbH, 2009, S. 15). Durch die Messungen können Masseverschiebungen hinsichtlich anaboler/kataboler Vorgänge beurteilt werden (Data Input GmbH, 2009, S. 4).

2.4.2.2 Nahrungsaufnahme

Die Probanden wurden über verschiedene Zeitpunkte des Versuchstags hinweg insgesamt siebenmal gebeten auf einer VAS Skala ihr Hungergefühl einzuschätzen. Gegen Versuchsende (13:05 Uhr) wurde ihnen eine neutrale Pizza (Margherita 3er-Packung) serviert. Hiervon gesättigt, wurde den Probanden ein vorher abgewogenes Buffet aus 3 Snacksorten mit unterschiedlichen Geschmacksqualitäten (schokoladig-süß, salzig, neutral), aber ähnlicher Kalorienzahl in Form von Schokoladencookies, TUC Keksen und Reiswaffeln angeboten. Die Kekse waren in bissgroße Stücke gebrochen, von denen sich die Versuchsteilnehmer ad libitum bedienen konnten. Ihnen wurde aufgetragen, die verschiedenen Keksorten über einen Zeitraum von 10 min. zu kosten und möglichst genau auf einer VAS Skala (0-100 mm) zu bewerten. Im Anschluss wurde, ohne dass die Probanden es bemerkten, die verbliebene Menge gewogen und von dem Ausgangswert abgezogen, um den tatsächlichen Verzehr ermitteln zu können. Aus den ermittelten Werten konnte der Gesamtkaloriengehalt errechnet werden, den die Versuchsteilnehmer, in Abwesenheit eines Hungergefühls, zu sich genommen hatten (Hallschmid et al. 2012, Higgs et al. 2008).

2.4.2.3 Hedonische Nahrungsbewertung

Das Verlangen der Probanden nach Nahrung wurde mittels Power-of-Food-Scale (PFS) Fragebogen ermittelt. Die PFS erlaubt über die Beantwortung verschiedener Aussagen die Messung des Appetits und Drang nach schmackhaften Speisen in Hinblick auf deren Anwesenheit, Verfügbarkeit sowie bereits gekosteten Speisen. Die Summierung der Antwortwerte ermöglicht eine Aussage hinsichtlich der Anfälligkeit des Befragten gegenüber Essensreizen zu treffen. Hohe Werte sprechen für eine hohe Anfälligkeit gegenüber dargebotenem Essen und dessen erhöhtem Konsum, niedrige Werte sprechen für das Vorhandensein von Resistenz- und Kontrollstrategien beim Umgang mit Heißhunger und Nahrungstimuli (Lowe et al. 2009; Forman et al. 2007).

Die Fragebögen wurden den Versuchsteilnehmer im nüchternen Zustand und nach Beginn des oGTT vorgelegt. Die Probanden sollten bezüglich 21

Aussagen jeweils auf einer Likert-Skala von 1 bis 5 angeben, wie sehr die jeweilige Aussage auf sie zutraf. Hierbei war ein Wert von 1 mit „*stimme überhaupt nicht zu*“ und ein Wert von 5 mit „*stimme voll und ganz zu*“ beziffert (Lowe et al. 2009).

2.4.2.4 Visuelle Analogskala (VAS)

Um subjektive Parameter zu messen, wurde eine VAS Skala benutzt, in diesem Fall wurde sie zur Bestimmung des aktuellen subjektiven Befindens sowie Hunger-, Durst- und Sättigungsgefühls eingesetzt. Den Probanden wurde aufgetragen auf einer 0-100 mm-Linie, deren Endpunkte mit gegensätzlichen Extremen („*Überhaupt nicht*“ und „*Extrem*“) bezeichnet waren, ihr subjektives Befinden mittels vertikalen Striches oder Kreuz deutlich zu vermerken. Nach Ende des Versuchs wurde dieser Wert auf einer definierten Skala von 0 bis 10 quantifiziert.

2.4.2.5 Indirekte Kalorimetrie

Die indirekte Kalorimetrie bezeichnet eine nicht-invasive Messmethode zur Bestimmung des Energieverbrauchs in einem Ruhe-Nüchtern- oder postprandialen Zustand. Sie ermöglicht die Bestimmung des Ruheenergieumsatzes über die Messung der CO₂-Produktion und des O₂-Verbrauchs in der Atemluft im Vergleich zur Raumluft während des Messzeitraums und wird anschließend auf 24 Stunden hochgerechnet.

Die Gaskonzentrationen in der Atemluft konnten über eine durchsichtige Haube gemessen werden. Diese war über dem Kopf der Probanden positioniert und wurde über einen Schlauch mit dem Messgerät (Deltatrac II, SensorMedics Vmax 29n; VIASYS® Healthcare, Yorba Linda, Kalifornien, USA) verbunden.

Aus dem Verhältnis von abgegebenem CO₂ zu aufgenommenem O₂ kann der respiratorische Quotient bestimmt werden. Dieser wird durch die Art von zugeführten Nahrungsmitteln oder Belastungsgrad beeinflusst, für Kohlenhydrate gilt RQ: 1,0; für Fette: 0,7; für Protein: 0,8; bei Lipogenese oder Hyperventilation: >1,0; bei Ketogenese: <0,7 (Kunz 1999).

Vor Versuchsbeginn wurde das Gerät mit einem Gasgemisch bestehend

aus 5 % CO₂ und 95 % O₂ kalibriert (Thienel et al. 2017). Es fanden insgesamt zwei Messungen (jeweils über einen Zeitraum von 30 min.) pro Versuchstag statt. Die erste Messung erfolgte vor Applikation des Nasensprays, die Zweite unmittelbar nach Start des oGTT. Die erste Messung diente der Bestimmung der basalen Werte für den jeweiligen Versuchstag. In der zweiten Messung wurde der Energieumsatz unter den Bedingungen des oGTT gemessen. Den Versuchsteilnehmern wurde die Anweisung gegeben, sich während der Messung ruhig zu verhalten und sich wenig bis gar nicht zu bewegen, um eine möglichst genaue Bestimmung des Ruheenergieumsatzes zu ermöglichen.

2.4.3 Olfaktorische Wahrnehmung (Sniffin' Sticks)

Das Geruchsvermögen und dessen Veränderung wurden im Laufe des Versuchs mittels dreier Tests überprüft. Zuerst wurde die Schwellenwahrnehmung getestet. Hierzu wurden den Versuchsteilnehmern 16 Tripletts der Sniffin' Stick als Filzstifte dargeboten (benutzt wurden Stifte der Burghart Messtechnik GmbH). Zwei der Filzstifte enthielten ein geruchloses Lösungsmittel, der Dritte beinhaltete eine definierte Konzentration an N-Butanol-Lösung. Die Geruchsschwelle wurde in Verdünnungsschritten getestet (Schritt 1 beinhaltete eine 4%ige N-Butanol-Lösung bis hin zu Schritt 16 mit einer 1:2¹⁶ verdünnten Konzentration von N-Butanol). Mittels „Drei Alternativen Entscheidungsparadigma“ wurde die Geruchsschwelle getestet. In 20-30 s Intervallen wurden die Tripletts dargeboten und die Probanden gebeten, den Stift mit Geruch zu identifizieren. Es wurde mit der höchsten Verdünnung begonnen und fortgeföhren bis zweimal aufeinander, in der gleichen Verdünnungsstufe, der N-Butanol Stift korrekt erkannt werden konnte (Stoll 2008; Burghart Medizintechnik, Gebrauchsanleitung Sniffin' Sticks). Der durchschnittliche Wert beträgt für Männer 6 (Hummel et al. 2007).

In der nächsten Aufgabe wurde die olfaktorische Diskrimination getestet. Aus 16 Tripletts mit je zwei identischen und einem andersartigen Geruch sollten die Probanden jeweils den einzelnen Duft identifizieren (Stoll 2008). Die Norm liegt bei mehr als 11 korrekt identifizierten Sticks (Hummel et al. 2007).

Schließlich wurde noch ein Test zur olfaktorischen Identifikation durchgeführt. Hierzu wurden 16 Stifte in randomisierter Reihenfolge dargeboten.

Jeder Stift enthielt einen bekannten Geruch, den die Probanden einer aus vier gegebenen Geruchsbeschreibungen im Multiple-Choice-Verfahren zuordnen sollten (Stoll 2008; Burghart Medizintechnik, Gebrauchsanleitung Sniffin' Sticks). Die Ergebnisse rangieren zwischen 0 und 16, Normwerte liegen bei mehr als 12 korrekten Identifikationen (Hummel et al. 2007).

Aus der Summe aller 3 Sub-Scores wurde am Ende ein kumulativer Score (SDI Score) ermittelt. Dieser Score erlaubt es, Aussagen über die olfaktorische Funktion der Versuchsteilnehmer zu treffen und Normosmie von Hyposmie und funktioneller Anosmie zu unterscheiden (Stoll 2008). Die altersabhängigen Normwerte sind in Tabelle 2 dargestellt, eine funktionelle Anosmie liegt bei einem SDI-Score von ≤ 15 vor (Kobal et al. 2000, Hummel et al. 2007).

Tabelle 2: Normwerte des SDI-Scores im Sniffin' Sticks Test (nach Kobal et al. 2000 und Hummel et al. 2007)

Alter in Jahren	<15	16-35	36-55
Normosmie	>24,9	>30,3	>27,3
Hyposmie	16-24,9	16-30,3	16-27,3
Anosmie	≤ 15	≤ 15	≤ 15

2.4.4 Kognitive Leistung

2.4.4.1 Digit Span-Test

Sowohl in der Grundlinienphase als auch nach Substanzgabe wurden Aufgaben zur Testung des Kurzzeitgedächtnisses und der Aufmerksamkeit durchgeführt. Den Testpersonen wurden in einer Geschwindigkeit von einer Zahl pro Sekunde bis zu neun Zahlen vorgelesen. Die Zahlenreihenfolge sollten sie im ersten Teil des Tests chronologisch (Vorwärts-Test), im zweiten Teil in umgekehrter Reihenfolge (Rückwärts-Test) wiedergegeben. Mit drei Zahlen wurde begonnen, bei korrekter Wiedergabe wurde die Zahlenreihe eine Zahl länger. Maximal konnte in der Vorwärtsreihe eine neunstellige Zahlenfolge und in der Rückwärtsreihe eine achtstellige Zahlenfolge erreicht werden. Nach zweimalig falscher Wiedergabe wurde mit der Rückwärtsreihe in gleicher Weise begonnen. Konnte die Zahlenreihe der Rückwärtsreihe zweimal nicht korrekt wiedergegeben

werden, war der Test vorbei (Bowden et al. 2013).

In der Auswertung zählten korrekte Antworten nach einer Darbietung zwei Punkte, nach zwei Darbietungen einen Punkt. Das Gesamtergebnis aus der Summe der Vorwärts- und Rückwärtstestung ergab als maximal erreichbare Punktzahl 28.

2.4.4.2 Psychomotorischer Vigilanztest

Über den jeweiligen Versuchstag hinweg wurden insgesamt 6 computerbasierte Vigilanzaufgaben durchgeführt, beginnend um 8:30 Uhr (Diekelmann et al. 2011). Diese Messung von Orexin A bzw. Placebo-Gabe diente dem Ausschluss von Aufmerksamkeitsdefiziten, welche Veränderungen des Essverhaltens und der Geruchswahrnehmung zugrunde liegen können (Nettersheim et al. 2015).

Die darauffolgenden Messungen erfolgten um 9:50, 11:00, 12:10, 12:40 und 13:45 Uhr und erlaubten Aussagen über die Aufmerksamkeit im Rahmen von Orexin A bzw. Placebo-Gabe.

In einem 5 min. dauernden TAP Test (Test of Attentional Performance 2.1, Herzogenrath, Deutschland) wurde den Probanden eine visuelle Aufgabe zur Bearbeitung gegeben.

Im Rahmen des Tests erschienen randomisiert rote Kreise rechts oder links auf einem Bildschirm. Die Probanden waren angewiesen worden, schnellstmöglich nach Erscheinen des Kreises auf einer Bildschirmseite, die entsprechende Taste zu drücken. Unmittelbar nach einer Entscheidung erhielten die Versuchsteilnehmer Feedback in Form von einer Fehlermeldung bei inkorrekturer Antwort bzw. Angabe der Reaktionszeit im Falle einer korrekten Antwort. Aus den Angaben der Probanden konnte die mittlere Reaktionszeit gemessen und die Anzahl korrekter Antworten pro Teilnehmer berechnet werden.

2.4.5 Kontrollmaße

2.4.5.1 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)

Auf einer fünfstelligen Likertskala mit den Endpunkten 1 (überhaupt nicht) und 5 (sehr) wurden drei bipolare Dimensionen der aktuellen psychischen

Befindlichkeit der Teilnehmer getestet. Gute-Schlechte Stimmung (GS), Wachheit-Müdigkeit (WM) und Ruhe-Unruhe (RU) wurden durch 24 Items erfragt und die Probanden sollten auf der Fünf-Punkte-Skala das zutreffendste mit einem Kreuz kennzeichnen. Hohe Werte weisen auf einen aktiven, positiven Zustand hin: Die Probanden fühlen sich hier bei guter Stimmung, sind wach sowie ruhig und gelassen, niedrige Werte deuten dementsprechend auf das andere Spektrum der Skala hin, die Probanden fühlen sich unwohl, sind erschöpft und nervös (Steyer et al., 1997).

2.4.5.2 Blutdruck und Herzfrequenz

Gemäß dem Versuchsablaufsprotokoll wurden in regelmäßigen Abständen die Werte für Blutdruck und Puls der Probanden bestimmt. Hierzu wurde ein vollautomatisches Gerät verwendet. Zu den Messzeitpunkten wurde die Manschette am Oberarm auf Herzhöhe platziert und die Messung mit einem Knopfdruck gestartet. Hierdurch wird die Manschette am Oberarm aufgeblasen und mechanisch die Arteria brachialis komprimiert (Erlanger 1916). Über die hierbei gemessenen Oszillationen werden Blutdruck und Puls errechnet.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mithilfe des Programms IBM SPSS Statistics 24 für das Windows-Betriebssystem. Für die Auswertung von Laborparametern und Vigilanz muss angemerkt werden, dass ein Proband aufgrund von Datenverlust ausgeschlossen werden musste. Um Veränderungen über die verschiedenen Messzeitpunkte erfassen zu können, wurde eine mehrfaktorielle Varianzanalyse für Messwiederholungen (ANOVA) mit den Faktoren *Bedingung* (Orexin A und Placebo) und *Messzeitpunkt* bzw. im Kekstest *Makronährstoffe* und *Kekssorte* und im Fall des PFS (gefragter) *Aspekt* verwendet. Der Faktor *Messzeitpunkt* bezieht sich auf den gesamten Versuchszeitraum, ergänzend wurde der Zeitraum des oGTT separat getestet. Die Freiheitsgrade wurden nach dem Greenhouse-Geisser-Verfahren korrigiert. Im Falle eines signifikanten Ergebnisses der ANOVA sowie ggf. zu explorativen Zwecken kamen t-Tests für abhängige Stichproben zum Einsatz.

Bei der Analyse der Blutparameter wurden die Grundlinienwerte vor der Intervention (Orexin oder Placebo) per ANOVA miteinander verglichen. Im Fall der Vergleichbarkeit der Grundlinien der beiden Bedingungen (Nichtvorhandensein statistisch signifikanter Unterschiede) wurde eine Grundlinienkorrektur der weiteren Parameterverläufe vorgenommen, d.h. die am jeweiligen Versuchstag des Probanden gemessenen Grundlinienwerte wurden gemittelt und von den jeweiligen Einzelwerten nach der Intervention abgezogen, so dass Differenzwerte resultierten, die ANOVA und ggf. t-Tests wie oben beschrieben unterzogen wurden. Für die graphische Darstellung der Verläufe beider Bedingungen in einer Abbildung wurden die jeweiligen Grundlinienwerte auf eine durch Mittelung errechnete gemeinsame Grundlinie gebracht und die postinterventionellen Differenzwerte jeweils addiert.

Durch numerische Integration (Trapezregel) wurde über die relevanten Zeiträume gerechnet die Fläche unter der Kurve (AUC) bestimmt. Die Ergebnisse werden im Folgenden als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts angegeben (MW \pm SEM). Ein p-Wert von $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3 Ergebnisse

3.1 Blutwerte

3.1.1 Glucose

Während der Grundlinienphase unterschieden sich die Glucosekonzentrationen nicht zwischen den Bedingungen ($p > 0,2$ für die Faktoren *Bedingung*, *Messzeitpunkt* und ihre Interaktion; im Folgenden entsprechend berichtet), die Ausgangskonzentrationen waren also vergleichbar. Es wurden die Glucosekonzentrationen der Probanden pro Messzeitpunkt untersucht. Im Rahmen des oGTTs bildete der Blutzuckerspiegel nach 30 min. einen ausgeprägten Glucose-Gipfel aus; dies zeigte sich sowohl in der Placebo- als auch in der Orexin A-Bedingung. Jeweils ausgehend von der Ausgangskonzentration kam es zu einer sprunghaften Erhöhung der Glucosekonzentration zu einem Gipfel ($F_{(1,16)} = 48,71$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des gesamten Versuchstags und $F_{(1,16)} = 44,9$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des oGTT). Dieser betrug $3,71 \pm 0,28$ mmol/l unter Placebo, wohingegen unter Orexin A ein Anstieg des Glucoselevel von $3,41 \pm 0,39$ mmol/l zu verzeichnen war. Unter Orexin A-Gabe ließ sich ein verminderter Spitzenwert messen. Bezogen auf den gesamten Versuchstag war das Ergebnis nicht signifikant. Hinsichtlich des zweistündigen Zeitraums des oGTT erwies sich die Senkung des Glucoseniveaus als signifikant ($F_{(1,16)} = 6,22$, $p = 0,02$ für den Faktor *Bedingung*). Besonders deutlich ließ sich dies in den ersten 60 min. des oGTT darstellen (für $AUC_{10-11\text{Uhr}}$ war $p < 0,05$). Die Interaktion *Messzeitpunkt* \times *Bedingung* war nicht signifikant, $p > 0,2$. In Abbildung 1 ist der komplette Verlauf der Glucosekonzentrationen grafisch dargestellt.

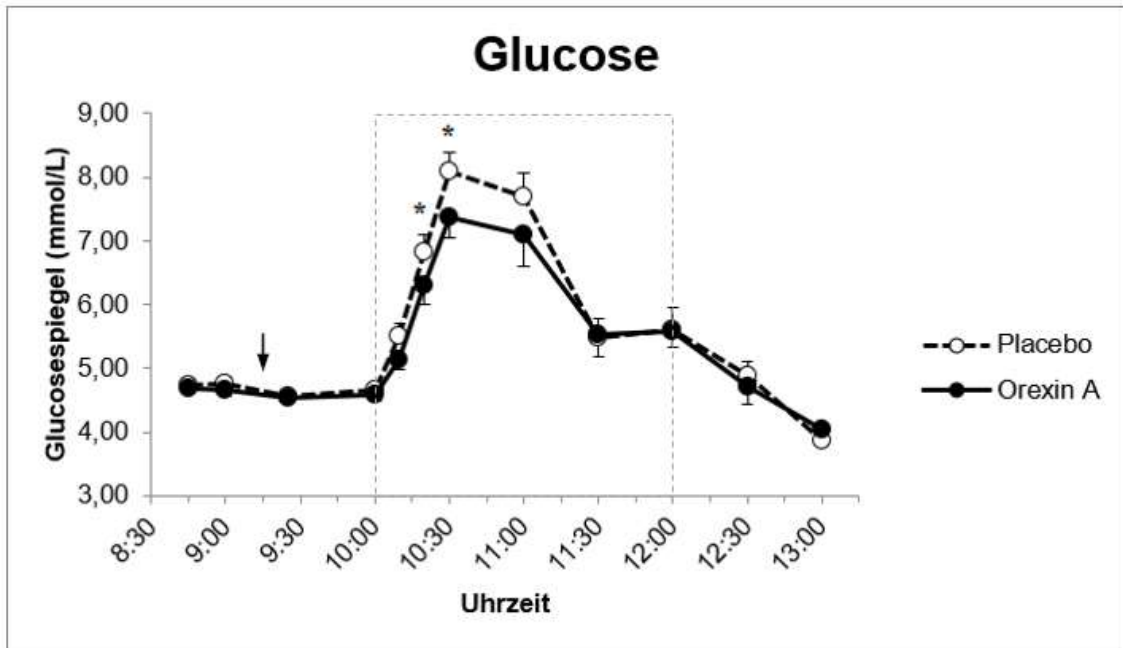


Abbildung 1: Glucosekonzentration (MW± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=18). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * p<0,05; ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.1.2 Insulin

Während der Grundlinienphase unterschieden sich die Insulinkonzentrationen nicht zwischen den Bedingungen ($p > 0,2$). Bei Betrachten der Insulinkonzentration bildete sich sowohl unter Orexin A als auch Placebo Bedingungen ein Insulingipfel in Reaktion auf die oral zugeführte Zuckerlösung aus. Das Ergebnis zeigte einen Zeiteffekt ($F_{(1,16)} = 38,33$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des gesamten Versuchstags und $F_{(1,16)} = 32,37$, $p < 0,001$ für den Zeitraum des oGTT). Die Analysen ergaben hinsichtlich des Faktors *Bedingung* und der Interaktion *Messzeitpunkt* × *Bedingung* keine signifikanten Effekte der Orexin A-Gabe auf die Insulinkonzentrationen ($F_{(1,16)} = 0,57$, $p > 0,05$ für den Faktor *Bedingung*; $p > 0,8$ für *Messzeitpunkt* × *Bedingung*). In der Auswertung fiel 5 min. nach Beginn des oGTT eine moderate Erhöhung der Insulinkonzentration nach Gabe von Orexin A auf ($p=0,063$). Anschließend lagen die Insulinkonzentrationen nach Gabe von Orexin A unterhalb des Niveaus der Placebo-Bedingung (10 min. nach Beginn des oGTT $p=0,073$ und nach 30 min. $p=0,049$).

Die Insulinsensitivitätswerte nach Cederholm zeigten eine signifikante

Erhöhung durch Orexin-Verabreichung: $ISI_{Cederholm}$ (Placebo) = $65,43 \pm 3,95$ und $ISI_{Cederholm}$ (Orexin A) = $71,16 \pm 3,98$; $p = 0,03$). Die innerhalb der ersten Stunde des oGTT erfassten Veränderungen des Insulinspiegels wiesen keine statistische Beziehung zu der in dieser Zeit gemessenen Senkung des Glucosespiegels (AUC_{60min}) auf (Korrelationskoeffizient r nach Pearson: $r = 0,35$, $p = 0,16$). Der Kurvenverlauf der Insulinkonzentrationen ist in Abbildung 2 dargestellt.

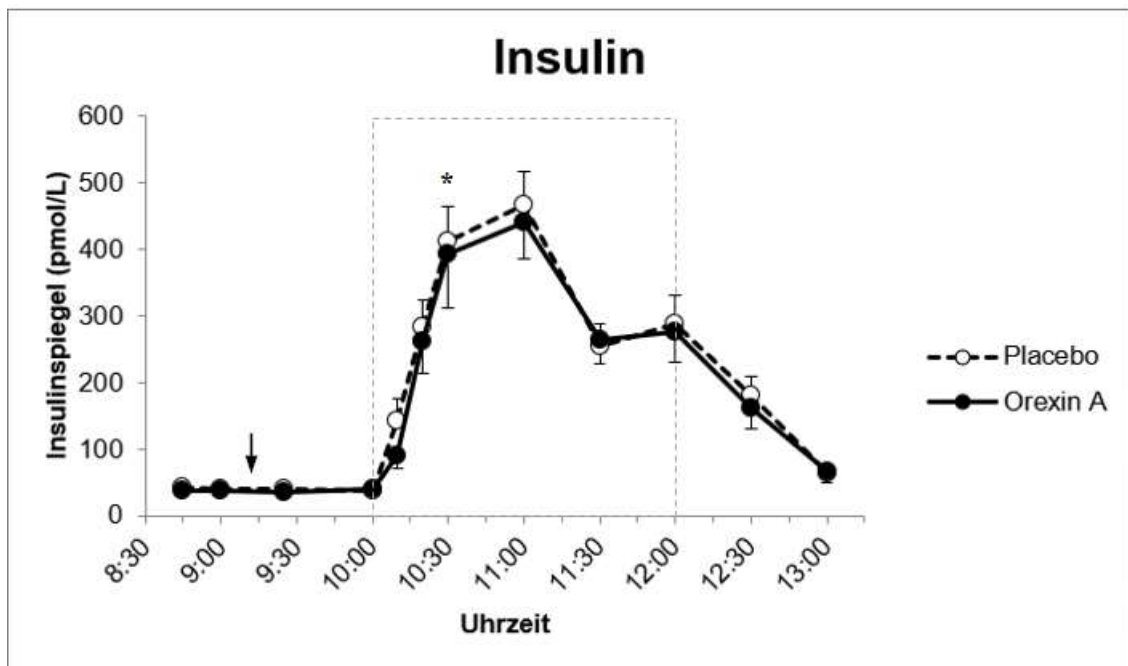


Abbildung 2: Insulinkonzentration ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=18$). Um 10:00 wurde der oGTT gestartet. Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden). * $p \leq 0,05$; \downarrow = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.1.3 C-Peptid

Während der Grundlinienphase unterschieden sich die C-Peptidkonzentrationen zwischen den Bedingungen ($p > 0,2$) nicht. Die Messung der C-Peptidkonzentrationen erlaubte es, Rückschlüsse auf die Insulinsekretion zu ziehen. Die im Laufe der jeweiligen Versuchstage bestimmten Werte zeigten einen entsprechenden Verlauf wie die gemessenen Insulinspiegel (s. Kapitel 4.4.1.2). So bildete sich auch bei den C-Peptidwerten nach Start des oGTT, ähnlich zu den Insulinspiegeln, ein deutlicher Gipfel der C-Peptidkonzentration

aus, gefolgt von einer anschließenden Dämpfung. Für den Faktor *Messzeitpunkt* war $p < 0,001$ ($F_{(1,16)} = 46,61$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des gesamten Versuchstags und $F_{(1,16)} = 45,17$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des oGTT). Allerdings erwiesen sich hinsichtlich des Faktors *Bedingung* und der Interaktion *Messzeitpunkt* \times *Bedingung* die Effekte auf die gemessenen C-Peptid-Konzentrationen als nicht signifikant ($F_{(1,16)} = 0,65$, $p = 0,59$ für den Faktor *Bedingung*, $p > 0,6$ für *Messzeitpunkt* \times *Bedingung*). Eine Analyse der einzelnen Zeitpunkte nach Beginn des oGTT zeigte erniedrigte C-Peptidkonzentrationen in der Orexin- im Vergleich zur Placebo-Bedingung (um 10:10 Uhr $p = 0,04$ und 10:20 Uhr $p = 0,048$). Die C-Peptid-Konzentrationen sind in Abbildung 3 dargestellt.

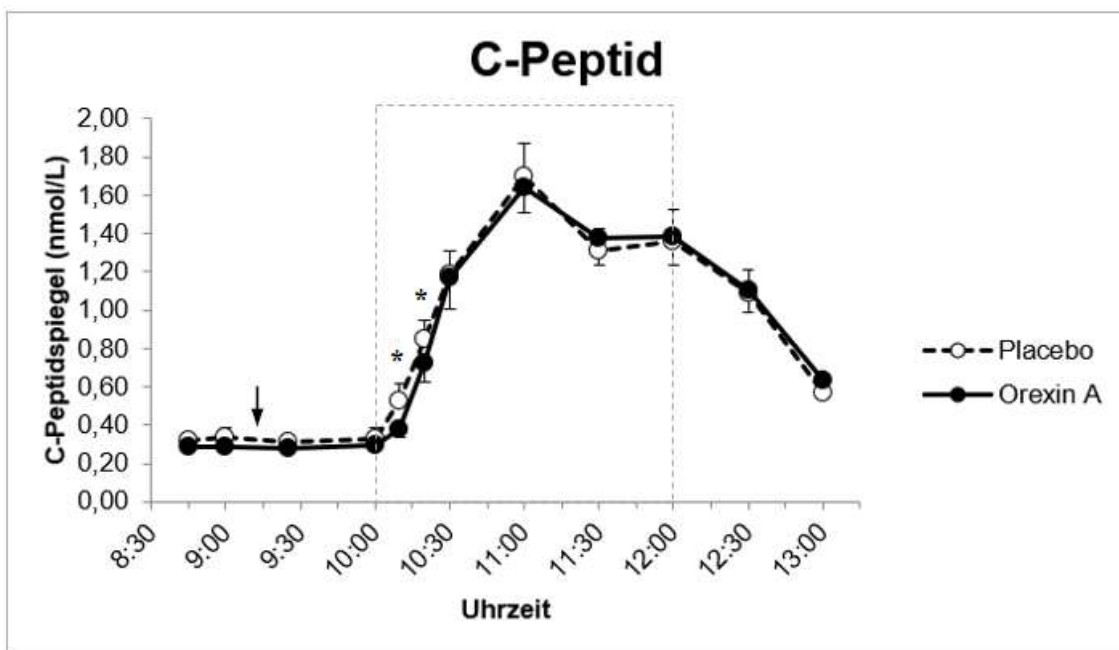


Abbildung 3: C-Peptid im Serum (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=18). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.1.4 Laktat

Während der Grundlinienphase waren die Ausgangskonzentrationen unter den jeweiligen Bedingungen vergleichbar ($p > 0,4$). Der Verlauf der Laktatkonzentrationen zeigte einen ähnlichen Verlauf wie der der

Glucosekonzentration, mit Konzentrationsanstieg nach Beginn des oGTT und anschließendem Abfall. Das Ergebnis zeigte einen Zeiteffekt ($F_{(1,17)} = 37,94$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des gesamten Versuchstags und $F_{(1,17)} = 80,01$, $p < 0,001$ für den Zeitraum des oGTT). Entsprechend den vorhergegangenen Ergebnissen der Glucosekonzentrationen und Insulinspiegel (s. Kap. 4.1.1 und 4.2.2) kam es zu einer Senkung des Laktatspiegel-Spitzenwerts unter Orexin A. Im Vergleich zur Placebo-Bedingung ließ sich eine signifikante Senkung um 12,42% ($p = 0,038$) vermerken. Zusätzlich zeigten sich über den Zeitraum des oGTT hinaus erniedrigte Laktatkonzentrationen im Plasma. Der Faktor *Bedingung* erreichte bezogen auf den oGTT das Signifikanzniveau ($F_{(1,17)} = 4,57$, $p = 0,047$; $AUC_{1000-1300\text{ h}}$, $p = 0,3$, $t(17) = -2,38$, $p = 0,03$). Die Interaktion *Messzeitpunkt* \times *Bedingung* verblieb ohne Signifikanz, $p > 0,2$. Der Verlauf der Laktatspiegel ist in Abbildung 4 dargestellt.

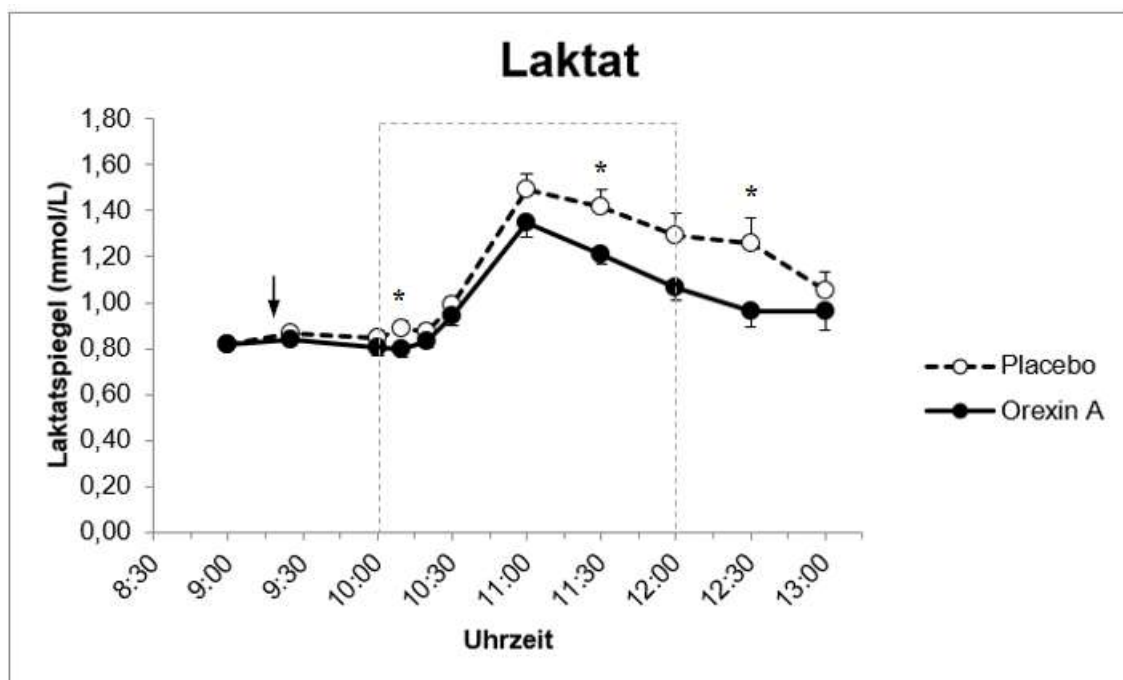


Abbildung 4: Laktatspiegel ($MW \pm SEM$), in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=18$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; \downarrow = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.1.5 NEFA

Während der Grundlinienphase waren die Ausgangskonzentrationen unter den

jeweiligen Bedingungen vergleichbar ($p > 0,4$). Die gemessene NEFA-Konzentration begann nach Beginn des oGTT mit einem Spitzenwert. Im weiteren Versuchsablauf fielen die Werte zunächst, nur um am letzten gemessenen Zeitpunkt erneut anzusteigen. Der zuletzt gemessene NEFA-Konzentration lag unterhalb des Ausgangsniveaus, dieses wurde nicht mehr erreicht. Das Ergebnis wies einen Zeiteffekt auf ($F_{(1,17)} = 38,74$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt*). Beim Vergleich der NEFA-Spiegel ließen sich keine signifikanten Effekte von Orexin A im Vergleich zu Placebo feststellen ($F_{(1,17)} = 0,47$, $p = 0,572$ für den Faktor *Bedingung*). Die Interaktion *Messzeitpunkt* × *Bedingung* verblieb ohne signifikante Effekte, $p > 0,5$. Die Peptidgabe führte weder zu einer gesteigerten noch verminderten NEFA-Konzentration. Der Verlauf der NEFA Konzentrationen ist in Abbildung 5 aufgetragen.

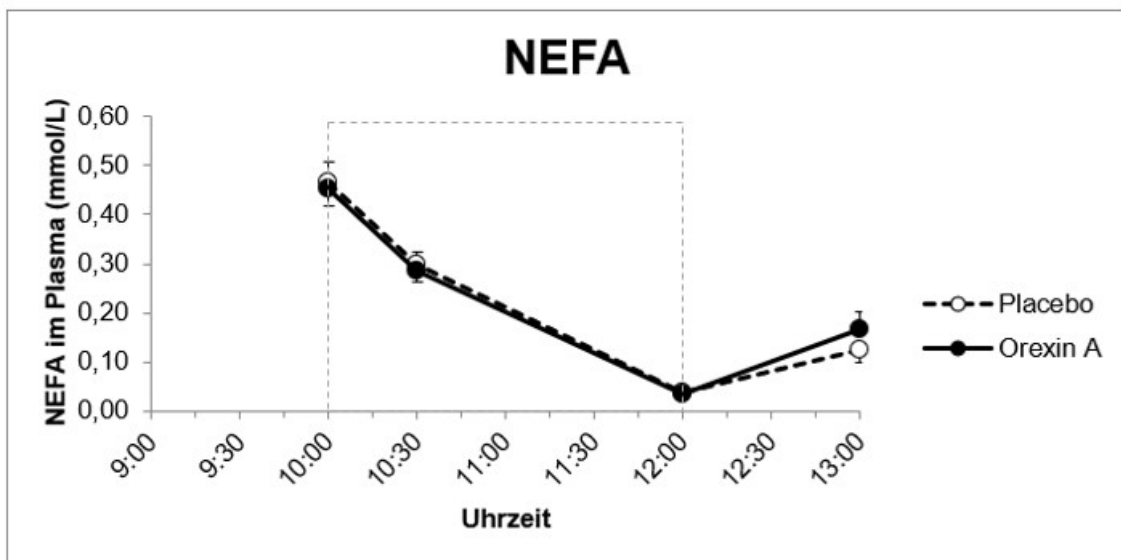


Abbildung 5: NEFA Konzentrationen (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung nach Orexin-Gabe ($n=18$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); Markierung: Zeitraum des oGTT. Die Ergebnisse waren nicht signifikant.

3.1.6 ACTH

Während der Grundlinienphase unterschieden sich die ACTH-Konzentrationen nicht zwischen den Bedingungen ($p > 0,4$). Nach Beginn der Messung kam es initial zu einem leichten Abfall mit anschließendem Anstieg der Werte zum Messungsende. Bezogen auf den Zeitraum des oGTT war der Faktor

Messzeitpunkt signifikant ($F_{(1,17)} = 3,37$, $p = 0,03$, auf den gesamten Versuchszeitraum bezogen $p > 0,3$). Hinsichtlich des gesamten Versuchs ergab sich kein signifikanter Einfluss von Orexin A auf die ACTH-Konzentrationen ($F_{(1,17)} = 1,17$, $p > 0,05$ für den Faktor *Bedingung*), auch während des oGTT erreichte der Faktor *Bedingung* nicht das Signifikanzniveau. Die Interaktion *Messzeitpunkt* × *Bedingung* war ohne signifikanten Effekt, $p > 0,3$. Es zeigte sich unmittelbar nach Orexin A-Gabe um 9:25 Uhr eine einmalige Erhöhung der ACTH-Konzentration ($p=0,009$). Eine nähere Analyse dieser Veränderung ergab allerdings keinen Zusammenhang zu der unter Orexin A gemessenen Abstumpfung des Glucosegipfels ($AUC_{10-11\text{Uhr}}$; Korrelationskoeffizient nach Pearson $r=0,21$, $p=0,41$). Die ACTH-Konzentrationen sind in Abbildung 6 dargestellt.

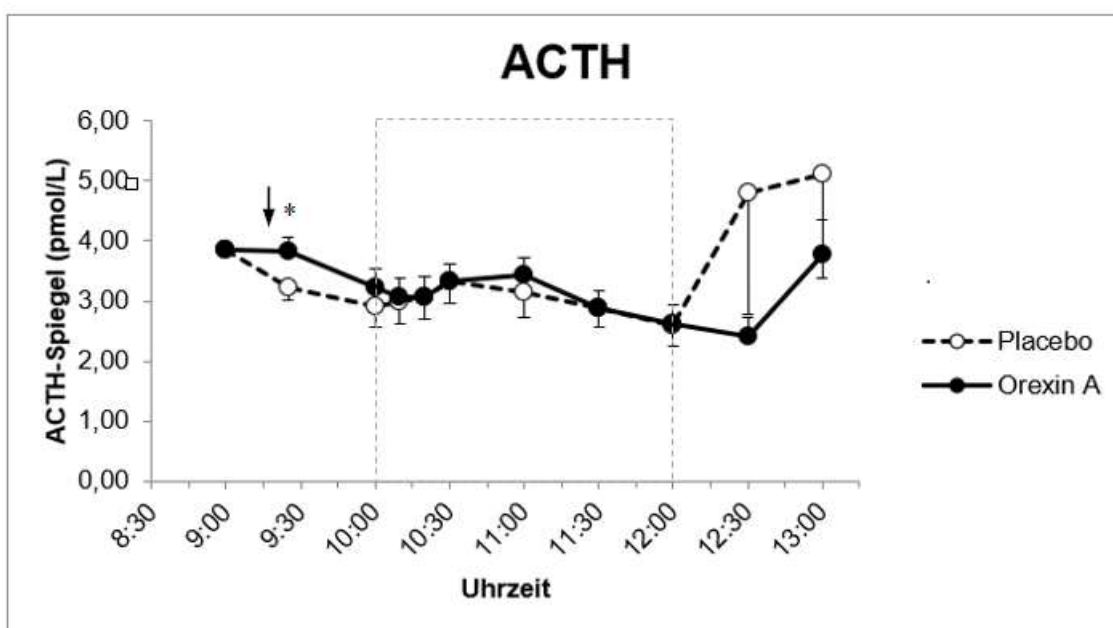


Abbildung 6: ACTH Spiegel im Plasma ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=18$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.1.7 Cortisol

Ergänzend zu den ACTH-Konzentrationen wurde der Cortisolspiegel im Plasma bestimmt. Während der Grundlinienphase unterschieden sich die

Cortisolkonzentrationen nicht zwischen den Bedingungen ($p > 0,4$). Entsprechend der physiologischen Cortisolausschüttung zeigte sich eine circadiane Rhythmik mit Höchstwert zu Messungsbeginn und einem Abfall im weiteren Laufe des Versuchstags. Es zeigte sich ein Zeiteffekt ($F_{(1,17)} = 17,6$, $p < 0,001$ für den Faktor *Messzeitpunkt* während des gesamten Versuchstags und $F_{(1,17)} = 12,51$, $p < 0,001$ für den Zeitraum des oGTT). Die Cortisolausschüttung war unter Peptidgabe leicht erhöht, statistisch relevant waren jedoch nur die Messzeitpunkte um 10:00 Uhr ($p=0,009$) und 11:30 Uhr ($p = 0,088$). Hinsichtlich des gesamten Versuchsablaufes war der Effekt der Hormongabe nicht signifikant ($F_{(1,17)} = 0,78$, $p > 0,05$ für den Faktor *Bedingung*). Die Interaktion *Messzeitpunkt* \times *Bedingung* war ohne signifikanten Effekt, $p > 0,5$. Analog zu den ACTH-Konzentrationen erfolgte eine Korrelationsprüfung der Cortisolspiegel bezüglich des unter Orexin A abgestumpften Glucosegipfels; hier konnte kein statistisch signifikanter Unterschied nachgewiesen werden (AUC_{10-11Uhr}; Korrelationskoeffizient nach Pearson $r=0,4$, $p=0,12$). Der entsprechende Kurvenverlauf ist in Abbildung 7 dargestellt.

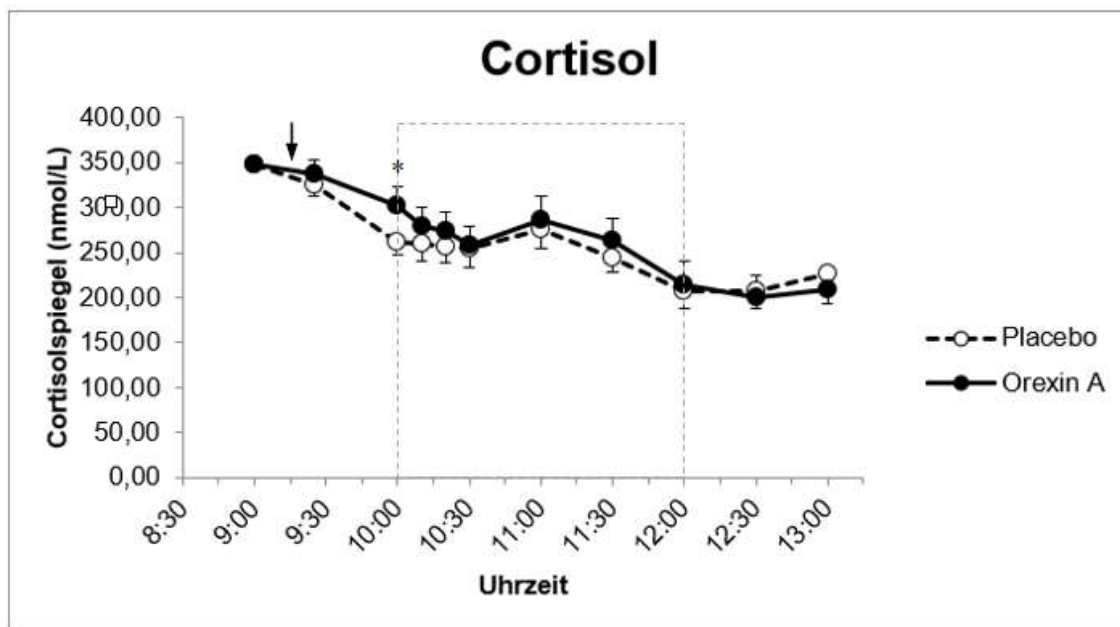


Abbildung 7: Cortisolspiegel (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=18). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.1.8 Somatotropin

Während der Grundlinienphase waren die Somatotropin-Ausgangskonzentrationen zwischen den Bedingungen vergleichbar ($p > 0,4$). Nach Verabreichung der Zuckerlösung kam es zu einer leichten Hyperglykämiebedingten Reduktion des Somatotropinausschüttung, mit anschließendem Anstieg nach dem Ende des oGTT. Der Faktor *Messzeitpunkt* war signifikant ($F_{(1,17)} = 8,09$, $p = 0,003$). Die Konzentrationen verliefen gemessen über den gesamten Versuchstag relativ schwankungsarm und blieben ohne signifikante Unterschiede zwischen den Bedingungen ($F_{(1,17)} = 0,65$, $p=0,49$ für den Faktor *Bedingung*). Die Interaktion *Messzeitpunkt* \times *Bedingung* war ohne signifikanten Effekt, $p > 0,3$. Die Konzentrationen sind in Abbildung 8 aufgetragen.

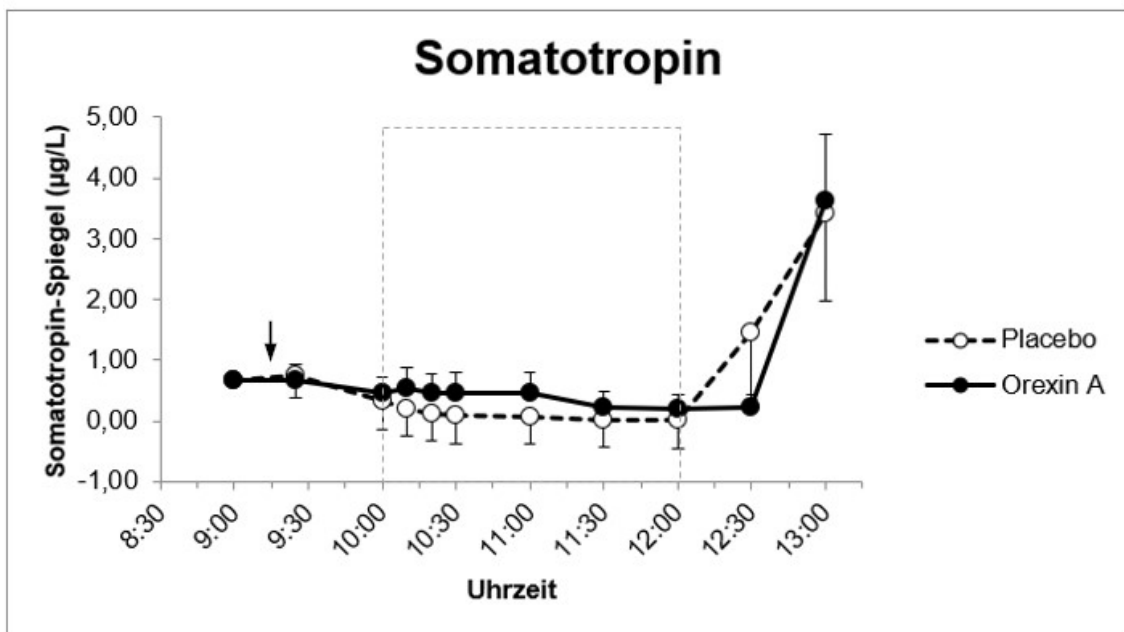


Abbildung 8: Somatotropin-Spiegel ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=18$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); \downarrow = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT. Die Werte waren nicht signifikant.

3.2 Energiehaushalt

3.2.1 Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA)

Die BIA ist eine einfache, nicht invasive Möglichkeit über Widerstandsmessungen

die Körperzusammensetzung zu errechnen. Der ECM/BCM-Index sollte bei Gesunden <1 betragen, ein steigender ECM/BGM-Index hätte auf eine Malnutrition hindeuten können (s. Methodenteil Kapitel 3.4.2.1). Die ermittelten Werte blieben allerdings unter beiden Bedingungen konstant ($ECM/BCM = 0,75 \pm 0,02$ für beide Bedingungen). Über die Messung des Zellanteils konnte der individuelle Ernährungszustand bestimmt werden. Mit $57,24 \pm 0,72$ % liegen Normwerte vor (s. 3.4.2.1. Methodenteil), die Probanden wiesen keine Hinweise auf Malnutrition auf. Weder Anhalte für katabole noch anabole Veränderungen konnten festgestellt werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 nachzulesen. Es ergab sich keine signifikante Beeinflussung durch die Hormonapplikation ($p > 0,05$).

Tabelle 3: BIA-Ergebnisse (MW \pm SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=18). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden). Es ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse. BCM: Körperzellmasse; BMI: Body Mass Index; ECM: extrazelluläre Masse; Reaktanz (Zellwiderstand in Ohm); Resistance (Wasserwiderstand in Ohm); Zellanteil: prozentualer Anteil von Zellen der BCM innerhalb der Magermasse

	Placebo	Orexin A
Resistance R (Ω)		
- 5Hz	571,63 \pm 13,21	562,47 \pm 13,80
- 50Hz	485,47 \pm 11,47	476,74 \pm 12,70
- 100Hz	455,16 \pm 10,72	447,37 \pm 12,28
Reaktanz Xc (Ω)		
- 5Hz	28,05 \pm 1,37	30,53 \pm 2,05
- 50Hz	61,68 \pm 1,66	60,16 \pm 1,58
- 100Hz	54,00 \pm 1,40	52,42 \pm 1,39
ECM (kg)	26,02 \pm 0,66	26,25 \pm 0,61
BCM (kg)	35,01 \pm 0,82	35,34 \pm 0,95
ECM/BCM	0,75 \pm 0,02	0,75 \pm 0,02
Zellanteil (%)	57,36 \pm 0,62	57,24 \pm 0,72

Phasenwinkel (°)	7,26 ± 0,15	7,23 ± 0,17
BMI (kg/m ²)	22,51 ± 0,33	22,46 ± 0,35

3.2.2 Nahrungsaufnahme

Unter Orexin A zeigte sich weder ein insgesamt erhöhter Konsum noch eine Präferenz für eine bestimmte Kekssorte. Allerdings kam es unter Orexin A zu einer veränderten Bewertung der verschiedenen Kekssorten: In der Bewertung des Geschmacks empfanden die Probanden die salzigen Kekse unter Hormongabe als salziger (Orexin A, 8,17±0,21; Placebo, 7,58±0,18; $p=0,049$). Die aufgenommene Gesamtkalorienmenge und die Menge der jeweiligen Makronährstoffe in kcal zeigten sich geringfügig erhöht, ohne das Signifikanzniveau zu erreichen. Es ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse im Vergleich der beiden Bedingungen hinsichtlich des Faktors *Bedingung* ($F_{(1,18)} = 0,7$ $p > 0,4$). Für den Faktor *Makronährstoffe* ergab sich $F_{(1,18)} = 52,04$, $p < 0,001$, die Interaktion *Makronährstoffe x Bedingung* war ohne signifikante Effekte, $p > 0,4$. Dies ist in Abbildung 9 dargestellt.

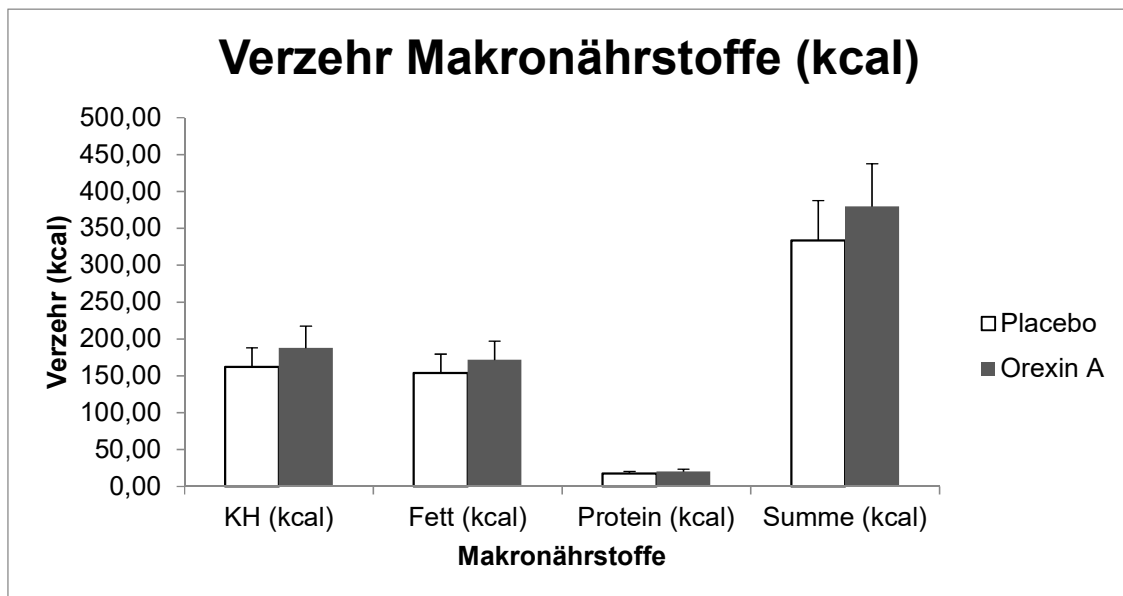


Abbildung 9: Kalorienverzehr im Rahmen des Snacktests in kcal (MW±SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=19). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); Die Werte für die Aufnahme von KH (=Kohlenhydraten), Fett und Protein wiesen sowohl einzeln, als auch in Summe keine signifikanten Ergebnisse zwischen den Bedingungen auf.

Betrachtet man den Verzehr pro Kekssorte in kcal, zeigte sich keine Orexin-induzierte Präferenz für eine Snack-Art (neutral, salzig, süß; $F_{(1,18)} = 0,12$, $p > 0,7$ für *Bedingung*). Für den Faktor *Kekssorte* war $F_{(1,18)} = 36,61$, $p < 0,001$. Die Interaktion *Kekssorte* \times *Bedingung* war ohne signifikante Effekte, $p > 0,7$. Der Gesamtkalorienverzehr sowie der Verzehr der jeweiligen Kekssorten während des Snacktests sind in Abbildung 10 grafisch aufgetragen.

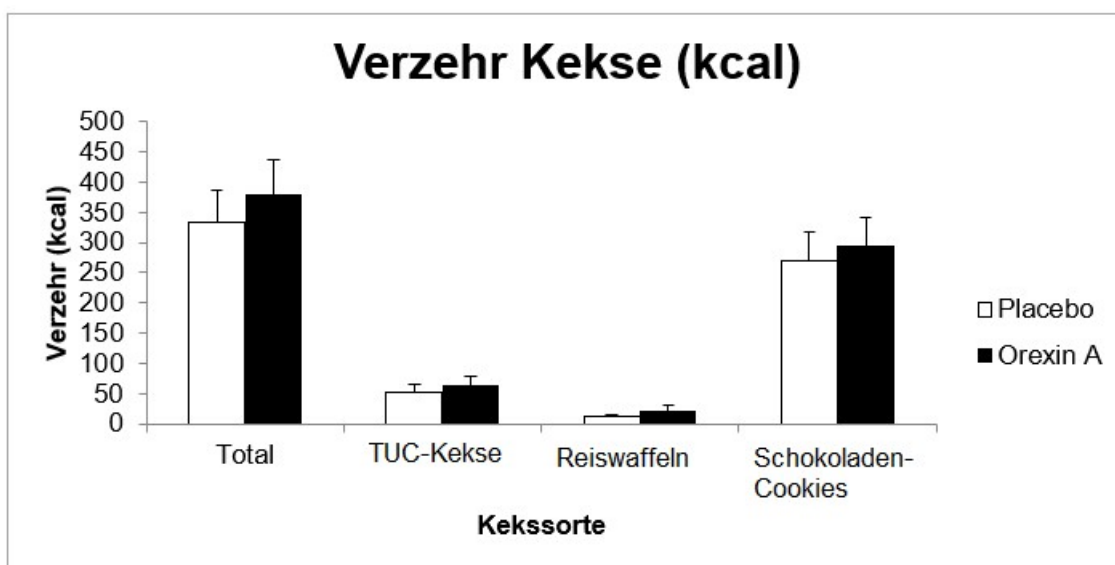


Abbildung 10: Verzehr der verschiedenen Kekssorten im Rahmen des Snacktests ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); Die aufgetragenen Werte je Sorte wiesen keinen signifikanten Unterschied auf.

3.2.3 Hedonische Nahrungsbewertung

In den Ergebnissen des PFS-Fragebogens zum subjektiven Verlangen nach Nahrung zeigte sich, dass Orexin A nicht zu einer Zunahme des hedonischen Hungergefühls führte ($F_{(1,18)} = 0,06$, $p = 0,9$ für den Faktor *Bedingung*). Der Faktor *Aspekt* ergab $F_{(1,18)} = 46,09$, $p < 0,001$, die Interaktion *Aspekt* \times *Bedingung* verblieb ohne Effekte, $p > 0,9$. Für jede Frage des Fragebogens galt $p > 0,05$, allein die Aussage „*Bevor ich eine meiner Lieblings Speisen esse, läuft mir vorher das Wasser im Mund zusammen*“ führte zu einer (nicht signifikanten) vermehrten Zustimmung vonseiten der Versuchsteilnehmer ($p = 0,09$).

3.2.4 Visuelle Analogskala (VAS)

Die Ergebnisse der VAS waren über den Versuch hinweg vergleichbar zwischen den Bedingungen. Die Ausprägung der verschiedenen Merkmale „*hungrig*“, „*satt*“, „*durstig*“, „*ängstlich*“, „*fröhlich*“, „*gestresst*“, „*schläfrig*“, „*konzentriert*“ blieb unverändert und wies keine signifikanten Effekte von Orexin A im Vergleich zu Placebo auf (*Messzeitpunkt* × *Bedingung* jeweils $p > 0,05$). Allerdings wurde das „*Verlangen nach Essen generell*“ unter Orexin-Einfluss als stärker empfunden ($F_{(1,18)} = 7,28$, $p=0,015$ für den Faktor *Bedingung*). Es zeigte sich ein Zeiteffekt (für den Faktor *Messzeitpunkt* während des gesamten Versuchstags war $F_{(1,18)} = 10,52$, $p < 0,001$). Für die Messzeitpunkte 11:05 Uhr, 11:45 Uhr und 12:15 Uhr waren die Unterschiede zur Placebo-Bedingung signifikant ($p < 0,05$). Nach der kleinen Mahlzeit um 13:30 Uhr war diese subjektive Angabe wieder erniedrigt und vergleichbar zur Placebo Bedingung. Dies ist in Abbildung 11 aufgetragen.

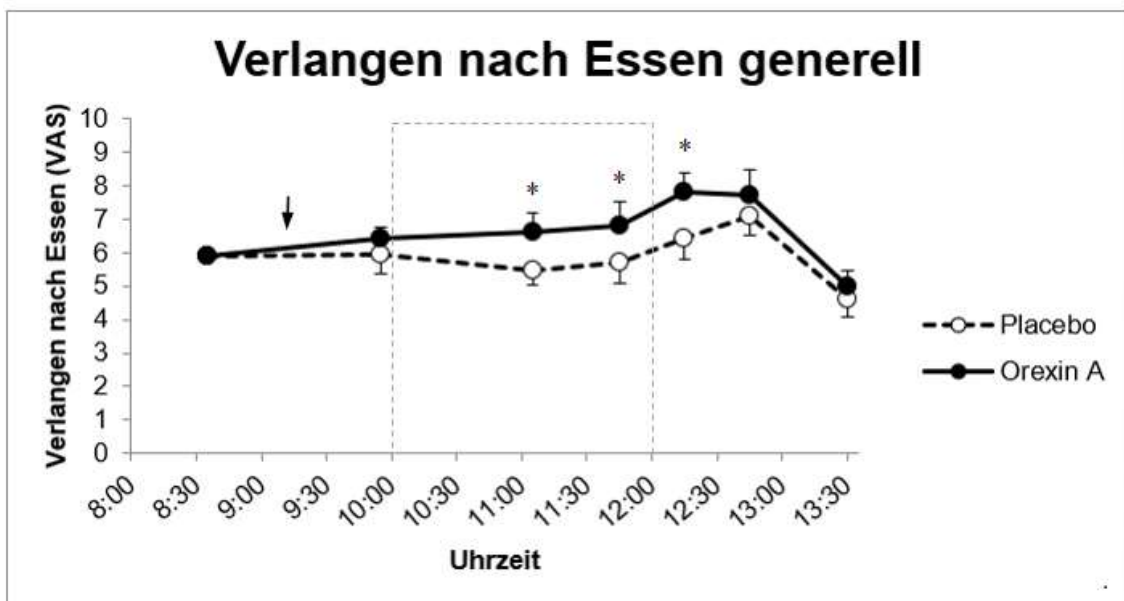


Abbildung 11: VAS-Werte bezüglich der Frage „*Verlangen nach Essen generell*“ ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.2.5 Indirekte Kalorimetrie

Für den Energieverbrauch in Ruhe wurde jeweils zuerst der Grundlinien-Wert vor Gabe des Nasensprays bestimmt (8:40-9:10 Uhr). Dieser gibt den basalen

Ruheumsatz im nüchternen Zustand wieder und war unter beiden Bedingungen vergleichbar. Für Orexin A ergaben sich Werte von $1667,04 \pm 39,62$ kcal/d, für Placebo $1708,98 \pm 50,77$ kcal/d ($p > 0,45$). Nach Verabreichung des Nasensprays wurden die Probanden gebeten, die Zuckerlösung des oGTT zu trinken (10:05-10:35 Uhr). Im Anschluss wurde die zweite Messrunde begonnen.

Verglichen mit den Ausgangswerten war ein Anstieg des Ruheumsatzes sichtbar. Der Unterschied der Werte, welche in der zweiten Messung erhoben wurden, wies zwischen Orexin A ($1800,32 \pm 50,04$ kcal/d) bzw. Placebo ($1772,64 \pm 48,04$ kcal/d) jedoch keine Signifikanz auf ($p > 0,05$). In Abbildung 12 ist die verbrannte Energiemenge zu den beiden Messzeitpunkten am jeweiligen Versuchstag dargestellt.

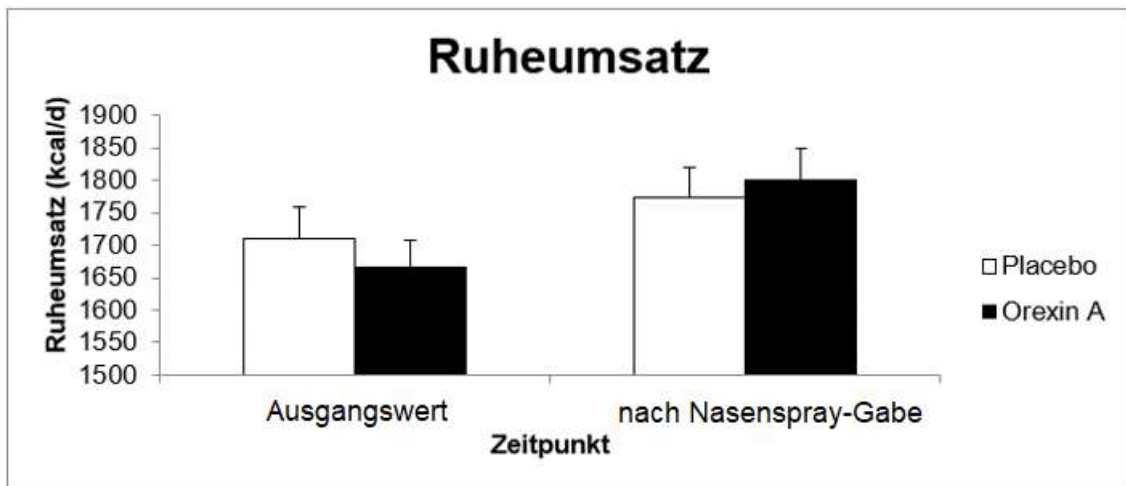


Abbildung 12: Ruheumsatz ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Baseline=Grundlinie.

Zwischen Orexin A- und Placebo-Gabe gab es weiterhin weder bezüglich der aufgenommenen Sauerstoffmenge, noch bezogen auf die abgegebene Kohlendioxidmenge signifikante Unterschiede.

Im Hinblick auf den respiratorischen Quotienten, als Verhältnis des ausgeatmeten Kohlendioxids zu gleichzeitig aufgenommener Menge an Sauerstoff, ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Bedingungen. Die jeweiligen Werte sind in Abbildung 13 grafisch dargestellt.

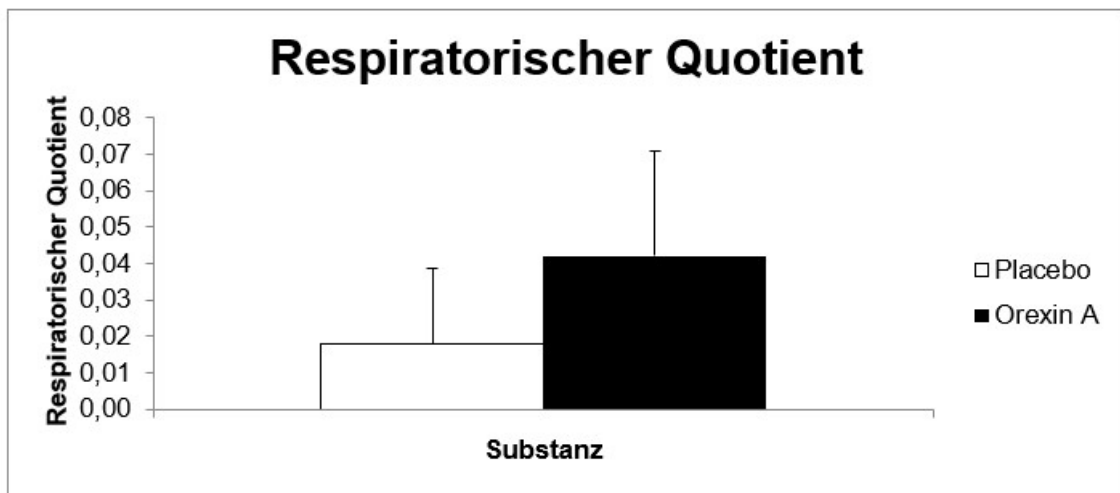


Abbildung 13: Differenz der respiratorischen Quotienten (RQ) ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden). Der Unterschied zwischen Placebo bzw. Orexin A war nicht signifikant.

3.3 Olfaktorische Wahrnehmung (Sniffin' Sticks)

Im Sniffin' Sticks-Test erreichten die Teilnehmer einen SDI-Score von $34,61 \pm 0,99$ nach Hormongabe, demgegenüber betrug der SDI-Score in der Placebobedingung $34,08 \pm 1,33$, es ergaben sich keine signifikanten Effekte. Auch die Geruchsleistungen aus den Untertests (Schwellenwert, Diskrimination, Identifikation) waren nicht signifikant verändert. Allerdings besaßen nur 12 Teilnehmer des Probandenkollektivs ein normales Riechvermögen entsprechend einer Normosmie. Die olfaktorische Leistung von 7 Probanden war deutlich eingeschränkt, ihrer Leistung entsprechend wurde eine Hyposmie diagnostiziert. Indessen gaben in der orientierenden Selbsteinschätzung vor Einschluss in das Probandenkollektiv alle Teilnehmer ein (subjektiv) normales Riechvermögen und eine freie Nasenatmung an. Es ließen sich keine signifikanten Effekte von Orexin A im Vergleich zu Placebo erheben (*Bedingung, Messzeitpunkt, Messzeitpunkt* \times *Bedingung* jeweils $p > 0,2$). Die Ergebnisse der Untertests und der SDI-Score sind in Abbildung 14 aufgetragen.

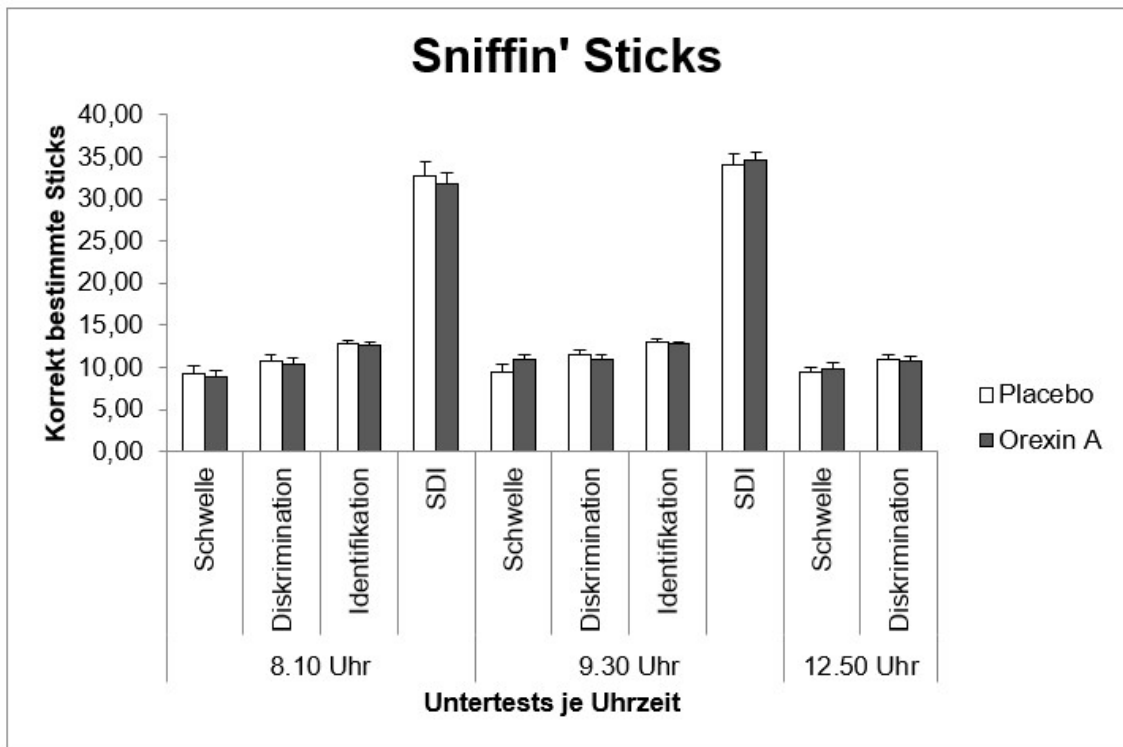


Abbildung 14: Sniffin' Sticks Ergebnisse (MW±SEM) für Geruchsschwelle, Diskriminationsaufgabe und Identifikation in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=19). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); ↓ = Orexin-Gabe. Hormongabe erfolgte um 9:15 Uhr. Die Werte sind jeweils für den Zeitraum vor, kurz im Anschluss und deutlich nach Hormongabe aufgetragen. Die Ergebnisse wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsbedingungen auf.

Eine Subgruppierung der Probanden in Normosmie und Hyposmie zeigte in der Normosmie-Gruppe keine Verbesserung der olfaktorischen Sinnesleistung: Nach Hormongabe betrug der SDI-Score $35,58 \pm 1,40$. Auch die Ergebnisse bezüglich ihrer Geruchsschwelle, ihrer Fähigkeit der Diskrimination und Identifikation von Gerüchen waren jeweils nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Bedingungen (Abbildung 15).

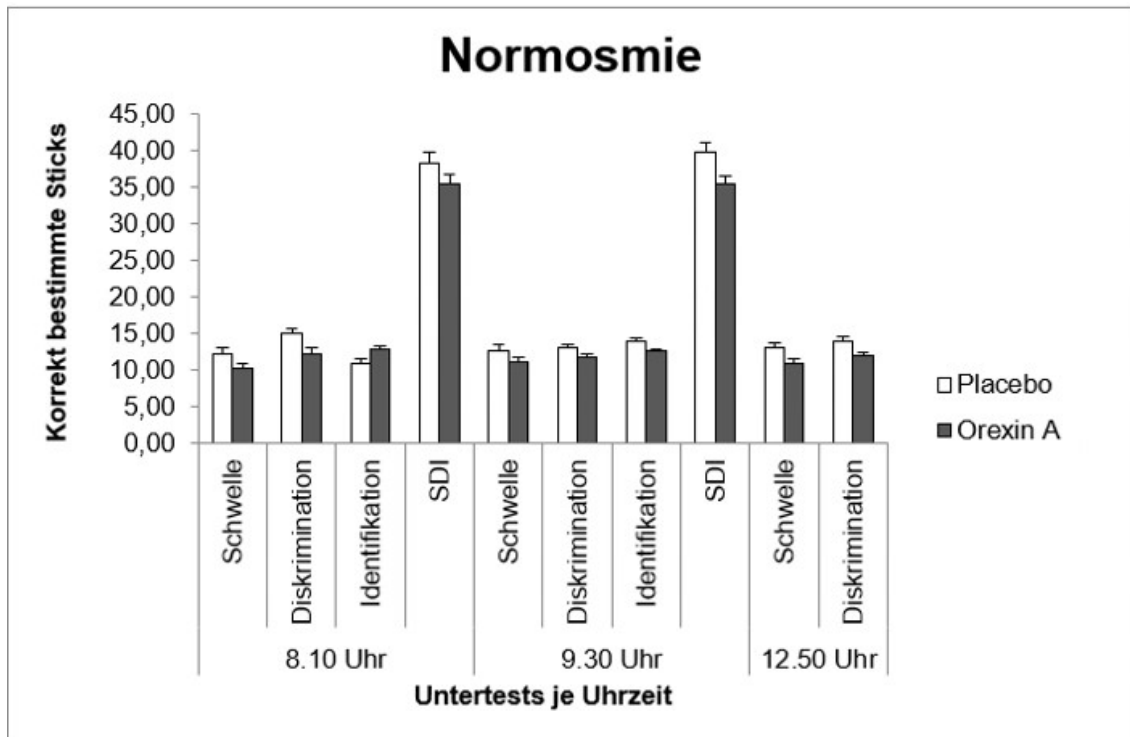


Abbildung 15: Sniffin' Sticks Ergebnisse (MW±SEM), für die Untergruppe Normosmie in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=12). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); ↓ = Orexin-Gabe; Hormongabe erfolgte um 9:15 Uhr. Die Werte sind jeweils für den Zeitraum vor, kurz im Anschluss und deutlich nach Hormongabe aufgetragen. Die Ergebnisse wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsbedingungen auf.

Filterte man aus der Gesamtanzahl jene Probanden heraus mit besonders niedrigen Testergebnissen, erhielt man die Untergruppe „Hyposmie“. Diese Gruppe erzielte unter Orexin im Vergleich zu Placebo einen erhöhten SDI-Score von $32,93 \pm 1,05$ ($p = 0,076$). In den Subtests fiel eine Verbesserung der Geruchsleistung im Schwellenwert auf, diese lag gerade noch außerhalb des Signifikanzniveaus. Es galt $10,36 \pm 1,11$ ($p = 0,052$). In der Diskriminations- und Identifikationsaufgabe konnte hingegen keinerlei signifikante Verbesserung unter Hormoneinfluss nachgewiesen werden ($p > 0,05$). In Abbildung 16 sind die Resultate für besagte Probandenauswahl dargestellt.

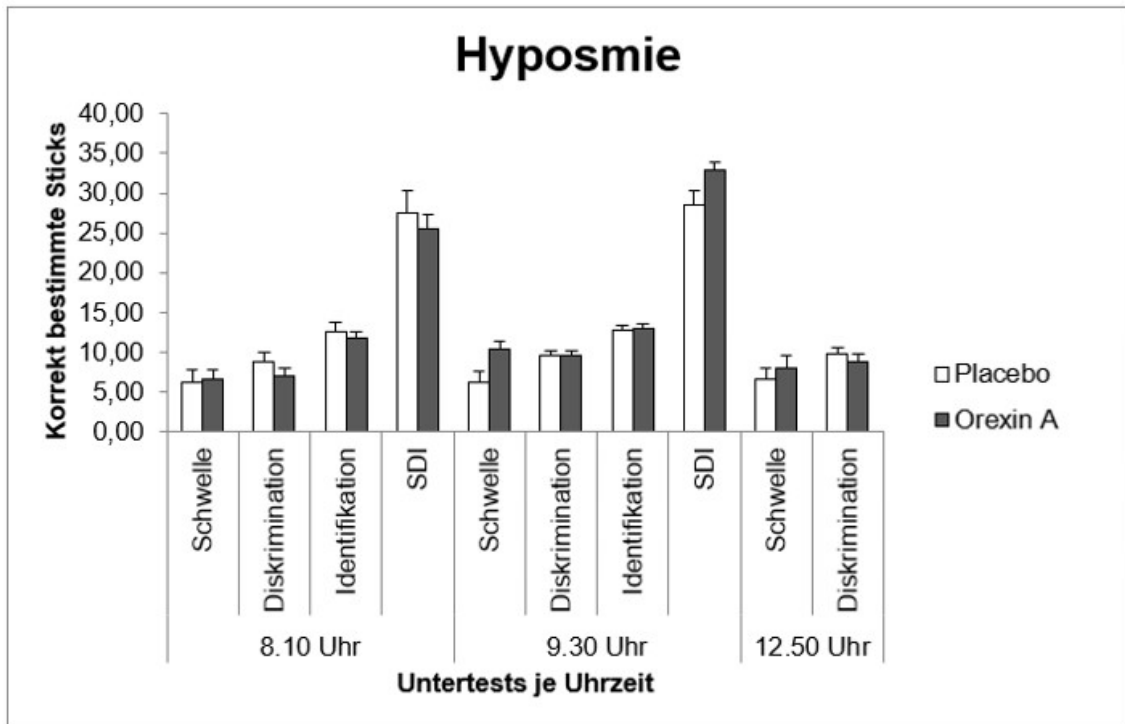


Abbildung 1116: Sniffin' Sticks Ergebnisse (MW±SEM), für die Untergruppe Hyposmie in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=7). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); ↓ = Orexin-Gabe; Hormongabe erfolgte um 9:15 Uhr. Die Werte sind jeweils für den Zeitraum vor, kurz im Anschluss und deutlich nach Hormongabe aufgetragen. Die Ergebnisse wiesen keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Versuchsbedingungen auf. Der Wert für die Schwellenidentifikation war direkt nach Orexin A-Gabe (9:30 Uhr) gerade nicht mehr signifikant verbessert ($p=0,052$).

3.4 Kognitive Leistung

3.4.1 Digit Span-Test

Im Vergleich der beiden Versuchsbedingungen ergab sich keine signifikante Beeinflussung der Gedächtnisleistung. Getestet wurde einmal vor Hormongabe und viermal im Anschluss, die jeweiligen Ergebnisse waren nicht signifikant verändert. Lediglich in der Rückwärtsaufgabe um 11:30 Uhr war ein Ergebnis kurzfristig am Rand des Signifikanzniveaus ($p = 0,09$).

Durch Orexin ließ sich weder eine kurzfristige noch längerfristige Wirkung auf die Merkfähigkeitsaufgabe nachweisen, die Wiedergabe der Zahlenfolge erfuhr weder in der Vorwärts- noch in der Rückwärtswiedergabe Verbesserungen. Es

ließen sich keine signifikanten Effekte von Orexin A im Vergleich zu Placebo erheben (*Bedingung*, *Messzeitpunkt*, *Messzeitpunkt* × *Bedingung* jeweils $p > 0,08$). Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4: Digit Span Ergebnisse (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=19). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden). Es ergaben sich keine signifikanten Ergebnisse. Eine Beeinflussung der Merkfähigkeit ließ sich nicht nachweisen.

		Orexin	Placebo
8:00 Uhr	Vorwärts	9,47±0,55	9,58±0,36
	Rückwärts	9,79±0,71	8,79±0,77
10:50 Uhr	Vorwärts	10,16±0,50	9,37±0,71
	Rückwärts	9,32±0,73	9,58±0,58
11:30 Uhr	Vorwärts	9,63±0,60	10,00±0,67
	Rückwärts	10,32±0,64	9,68±0,64
12:00 Uhr	Vorwärts	10,21±0,66	9,84±0,62
	Rückwärts	9,53±0,79	9,89±0,70
12:30 Uhr	Vorwärts	9,63±0,52	9,16±0,61
	Rückwärts	9,32±0,76	9,37±0,51

3.4.2 Psychomotorischer Vigilanztest

Über den Versuch hinweg waren die Ergebnisse aus der Vigilanzaufgabe zwischen den beiden Versuchsbedingungen vergleichbar. In der ANOVA ergaben sich keine signifikanten Effekte bezüglich Reaktionszeit ($p > 0,05$). Der Faktor *Bedingung* ergab einen Einfluss auf Präzision ($F_{(1,18)} = 5,61$, $p = 0,03$) und Summe der korrekten Antworten ($F_{(1,18)} = 6,32$, $p = 0,02$) mit jeweils schlechterer Leistung unter Hormoneinfluss. Der Faktor *Messzeitpunkt* und die Interaktion *Messzeitpunkt* × *Bedingung* blieben ohne signifikante Effekte ($p > 0,2$). Um 12:10 Uhr war unter Placebo die Genauigkeit relevant verbessert ($p=0,028$). Dies ist grafisch in Abbildung 17 dargestellt.

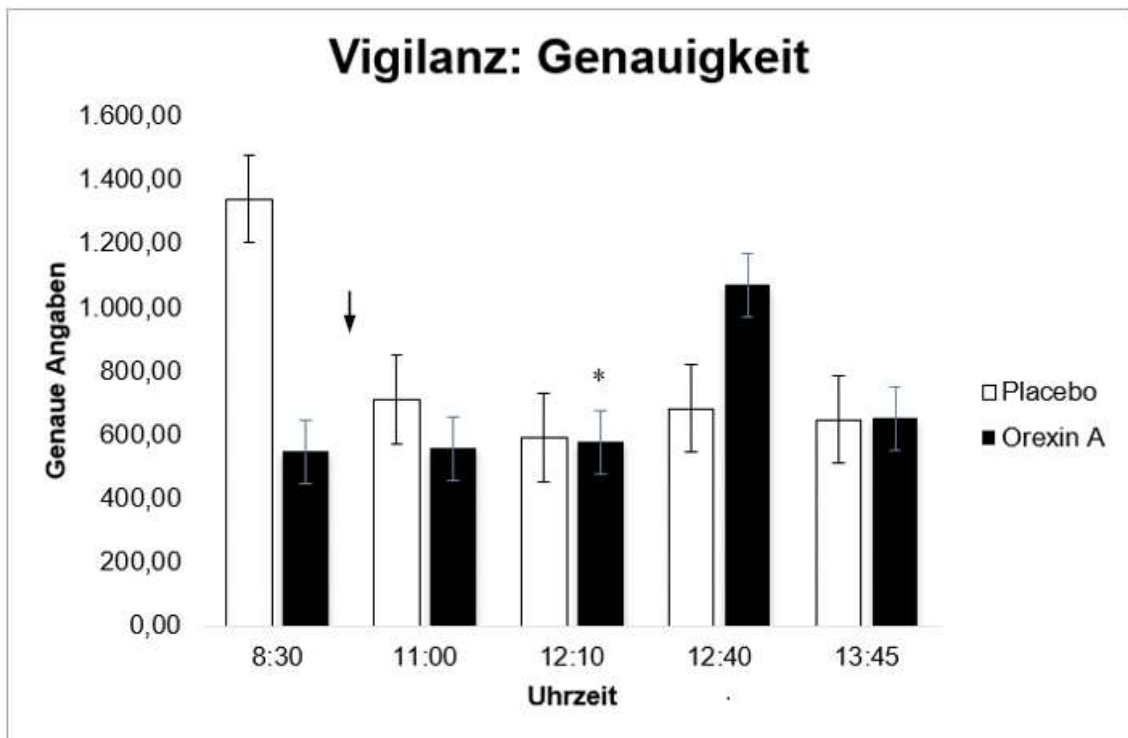


Abbildung 17: Ergebnisse aus der Vigilanzaufgabe Genauigkeit (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=18). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe.

Zum selben Messzeitpunkt war die Summe der korrekten Antworten unter Orexin A einmalig niedriger als unter Placebo ($p=0,027$). Im weiteren Versuchsablauf waren die Ergebnisse erneut vergleichbar. Weitere Veränderungen ergaben sich nicht. Grafisch ist dies in Abbildung 18 aufgetragen.

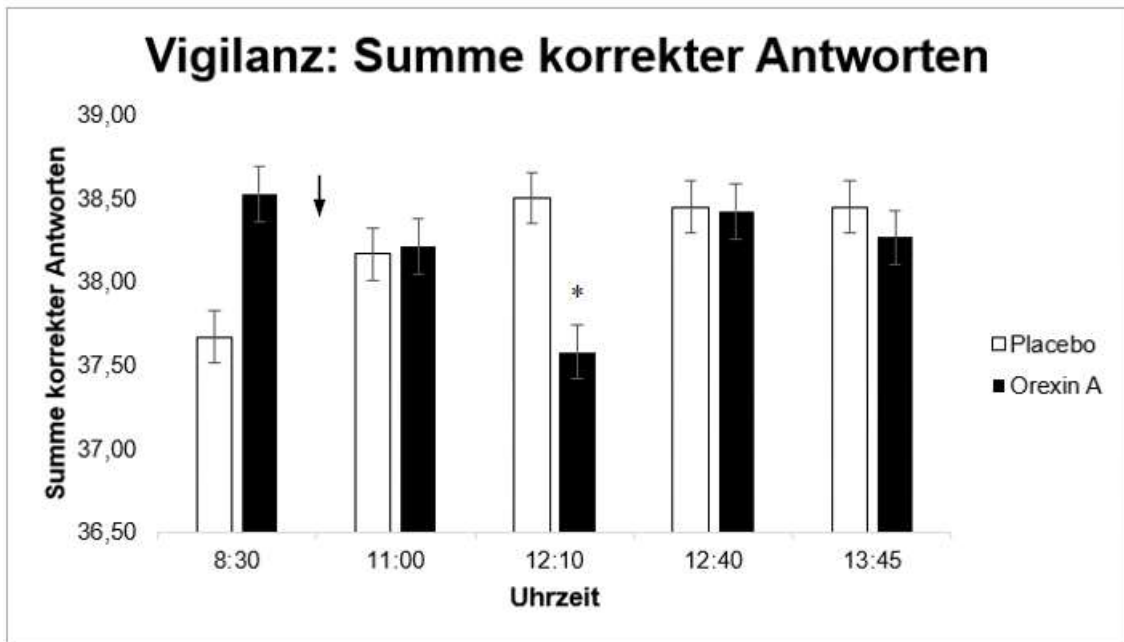


Abbildung 18: Vigilanzaufgabe Summe der korrekten Antworten (MW ± SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung (n=18). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe. Um 12:10 war das Ergebnis unter Orexin A einmalig signifikant verändert.

3.5 Kontrollmaße

3.5.1 Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen (MDBF)

Über Befindlichkeitsfragebögen wurden Stimmung, Wachheit bzw. Müdigkeit, und gefühlte Ruhe bzw. Unruhe erfasst: Die Angaben zu Stimmung und Ruhe bzw. Unruhe zu den jeweiligen Versuchsbedingungen lieferte keine signifikanten Effekte. Der Vergleich der Kategorie Wachheit bzw. Müdigkeit (WM) zeigte unter Orexin A-Gabe ein erhöhtes Müdigkeitsempfinden im Laufe des Versuchstages ($F_{(3,60)} = 3,92$; $p = 0,01$ für die Interaktion *Messzeitpunkt* × *Bedingung*).

Es zeigte sich bezüglich des MDBF ein Zeiteffekt ($F_{(3,60)} = 3,92$; $p = 0,003$ für *Messzeitpunkt*). Der Faktor *Bedingung* und die Interaktion *Messzeitpunkt* × *Bedingung* ergaben für die weiteren Kategorien keine signifikanten Effekte ($p > 0,1$). Die Ergebnisse sind in Abbildung 19 dargestellt.

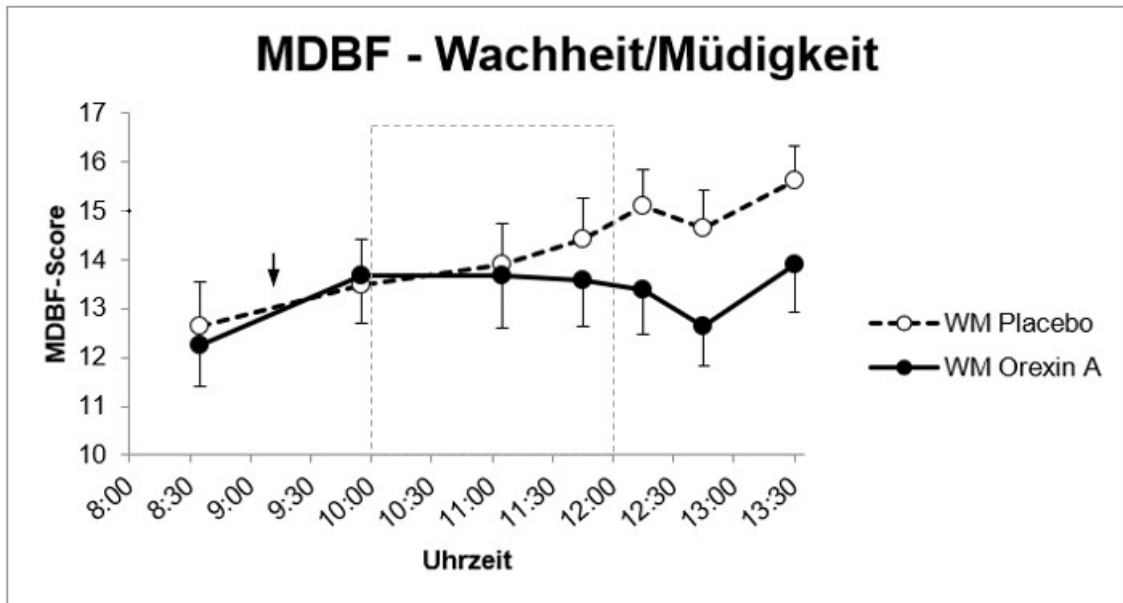


Abbildung 19: MDBF Werte zu den Qualitäten Wachheit und Müdigkeit (WM) zu den verschiedenen Abfragezeitpunkten ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

3.5.2 Blutdruck und Herzfrequenz

Der Blutdruck der Probanden wurde zusammen mit den Blutabnahmen an 12 Zeitpunkten bestimmt. Es kam zu keinen relevanten Blutdruckschwankungen. Sowohl der systolische als auch der diastolische Wert blieben während des Versuchs weitestgehend konstant, beide Messwerte wiesen einen Zeiteffekt auf (für den Faktor *Messzeitpunkt* war $p < 0,001$). Der Faktor *Bedingung* und die Interaktion der beiden Faktoren wiesen keine Effekte auf. Es lässt sich hervorheben, dass der systolische Wert um 9:25 Uhr, direkt nach Applikation des Nasensprays, unter Orexin A mit $127,05 \pm 1,86$ mmHg um 4,35% höher war, als der entsprechende Placebo-Wert ($122,21 \pm 2,43$ mmHg). Dieser Unterschied war gerade nicht mehr signifikant ($p=0,062$).

Der diastolische Wert unter Orexin A zum Zeitpunkt des Glucosegipfel (10:30 Uhr) mit $69,21 \pm 1,55$ mmHg war im Vergleich zur Placebo-Bedingung ($73,29 \pm 1,29$ mmHg) signifikant erniedrigt ($p=0,022$). Ein weiterer Unterschied des diastolischen Blutdrucks fand sich an der vorletzten Blutabnahme um 12:30 Uhr, hier war der Wert unter Orexin A erneut niedriger als der entsprechende

Placebowert. Es wurden $71,63 \pm 1,2$ mmHg im Vergleich zu $75,53 \pm 1,51$ mmHg gemessen ($p=0,058$). Der Verlauf der Blutdruckwerte im Tagesverlauf ist in Abbildung 20 dargestellt.

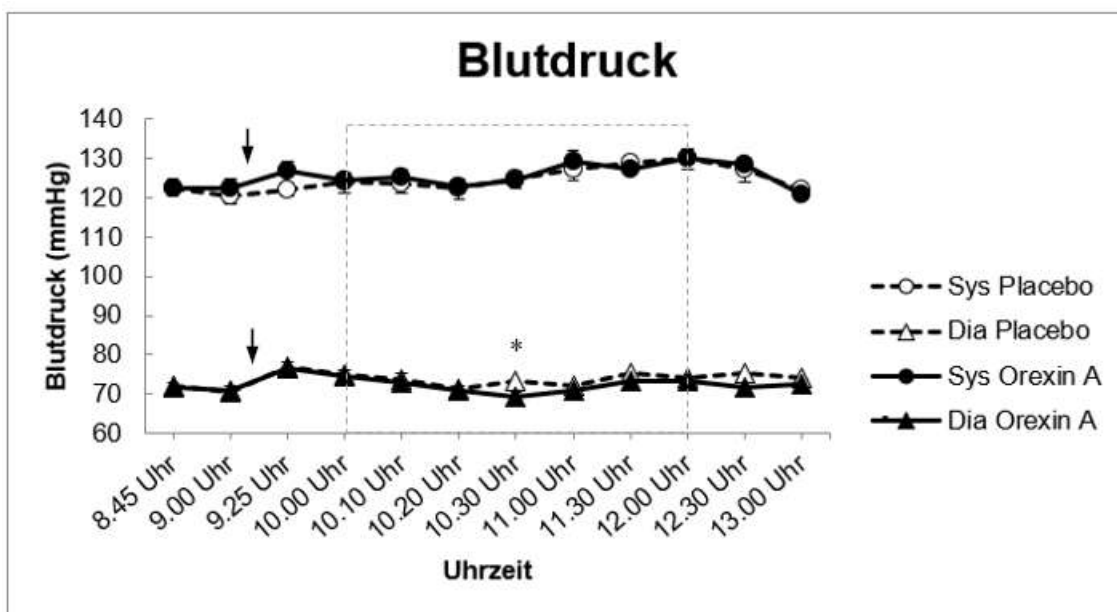


Abbildung 20: Blutdruck systolisch und diastolisch (MW \pm SEM) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); * $p \leq 0,05$; \downarrow = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT. Die oberen Kurven stellen den systolischen, die unteren Kurven den diastolischen Blutdruck dar. Der systolische Blutdruck zeigte keine signifikanten Veränderungen. Die diastolischen Werte zeigten hingegen unter Hormoneinfluss um 10:30 einen einmalig signifikant niedrigeren Wert.

Hinsichtlich der Herzfrequenz gab es keine signifikanten Effekte. Es kam weder zu Tachykardien noch zu Bradykardien. Über den Versuchstag hinweg wurde in beiden Bedingungen am Morgen zur Zeit der Verabreichung des Nasensprays eine leichte Erhöhung der Schläge/min. gemessen sowie ein leichter Anstieg der Herzfrequenz gegen Versuchsende festgehalten. Grafisch ist dies in Abbildung 21 aufgetragen.

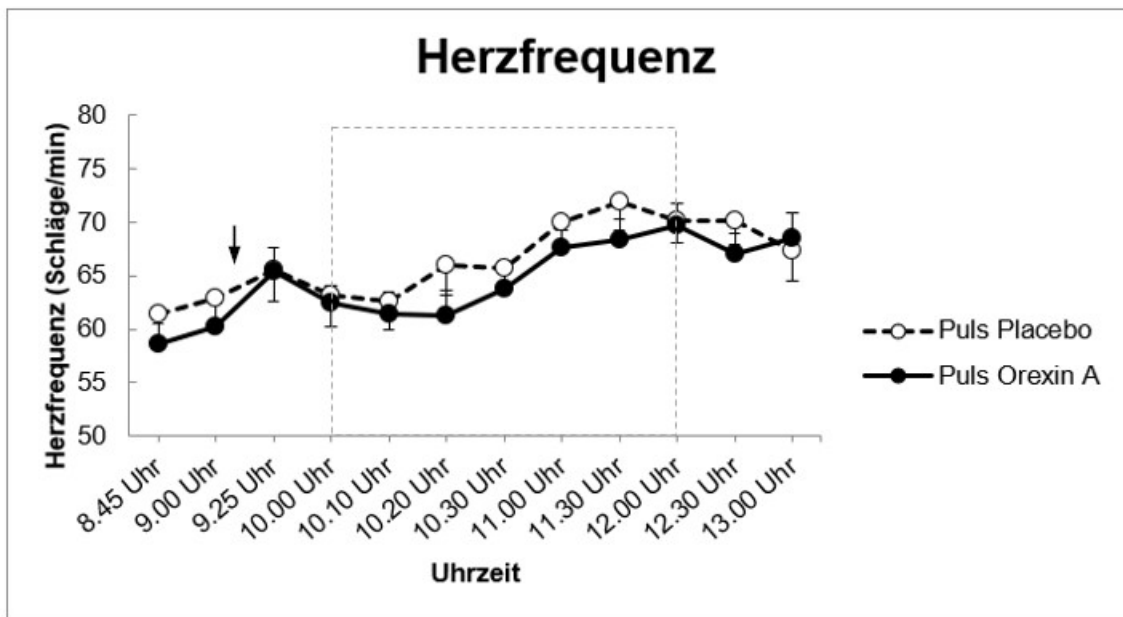


Abbildung 21: Herzfrequenz während des Versuchsablaufs ($MW \pm SEM$) in der Placebo- und der Orexin A-Bedingung ($n=19$). Die Werte wurden auf eine gemeinsame Grundlinie gebracht (vgl. Methoden); ↓ = Orexin-Gabe; Markierung: Zeitraum des oGTT.

Während des Versuchs traten keine Nebenwirkungen nach der Applikation von Orexin A auf.

4 Diskussion

In dieser Studie wurden die Auswirkungen von morgendlich intranasal verabreichtem Orexin A auf den Glucosestoffwechsel, die Energiehomöostase und das Geruchsvermögen bei gesunden männlichen Probanden untersucht. Während im Tiermodell bereits eine Vielzahl von Erkenntnissen gewonnen werden konnte, wurden in dieser Arbeit die Wirkung dieses Hormons auf den menschlichen Organismus näher beleuchtet.

4.1 Glucosestoffwechsel

Bezüglich des Glucosestoffwechsel konnte in den Ergebnissen, unter Berücksichtigung der Variationsbreite des Maximalwerts des OGTT, ein Zusammenhang zwischen Orexin A und peripherer Insulinwirkung nachgewiesen werden. Auf die Zufuhr der Glucoselösung folgte unter beiden Bedingungen eine physiologische Erhöhung der gemessenen Konzentration von Glucose und Insulin. Nach der Gabe von Orexin A war allerdings der Anstieg der Glucosekonzentration signifikant geringer als unter den Vergleichsbedingungen. Die intestinale Aufnahme von Glucose verläuft physiologisch über SGLT-1 an den Enterozyten. Orexin A hemmt den SGLT-1 vermittelten Glucosetransports und verringert somit die Glucosekonzentration (Ducroc et al. 2007).

Unter Hormoneinfluss zeigten sich die neben dem Glucosegipfel auch die ermittelten Laktatspiegel vermindert. Dies lässt sich als Effekt einer verbesserten Insulinwirkung unter Orexin A festhalten. Orexin A verbessert folglich sowohl die Glucoseaufnahme als auch die Insulinsensitivität, dies wurde bereits in vergangenen Studien gezeigt (Shiuchi et al. 2009).

Des Weiteren wies Orexin A in früheren Studien eine regulierende Wirkung auf die Produktion und Verwertung von Glucose in den peripheren Geweben über die Beeinflussung des autonomen Nervensystems auf. Zusätzlich scheint es ein protektiver Faktor gegen alters- und ernährungsinduzierte peripherer Insulinresistenz zu sein (Tsuneki et al. 2010).

Ein Einfluss von Orexin A auf die Sekretion von Insulin konnte bezüglich des Glucosegipfels dargestellt werden. Die Insulinkonzentrationen wiesen nach

Erhalt des Hormons einen zügigeren Anstieg auf, gefolgt von einer Dämpfung. Ferner ließ sich nach Gabe von Orexin ein erhöhter Insulinsensitivitätsindex nach Cederholm feststellen, dieser spricht für einen positiven Einfluss von Orexin A auf die periphere Insulinsensitivität (Cederholm et al. 1990).

Dies passt zu den Ergebnissen aus vergangenen Studien, welche bereits eine Orexin A vermittelte Steigerung der Insulinsekretion nachweisen konnten (Nowak et al. 1999, Nowak et al. 2000). Außerdem wird unter Orexin A eine Glucose-vermittelte Potenzierung der Insulinsekretion vermutet (Park et al. 2015). Der gezeigte antidiabetogene Effekt von Orexin A lässt vermuten, dass Orexin A ein großes Potenzial bezüglich der Therapie und Prävention des Diabetes Typ II aufweist. In der Diabetes-Forschung gelang bereits in vitro der Nachweis eines protektiven Effekts einer Orexin A Behandlung: Proinflammatorische Zytokine waren vermindert, die TNF- α vermittelte Apoptose pankreatischer Inselzellen war verringert und es zeigte sich insgesamt eine verbesserte Glucosetoleranz bei Tieren mit Typ II Diabetes (Kaczmarek et al. 2017). Dies erklärt sich dadurch, dass Orexin Neuronen sich nicht nur im lateralen Hypothalamus befinden, sondern vermutlich auch Zellpopulationen im Plexus myentericus und submucosus, sowie in den pankreatischen Langerhans-Inseln existieren (Kirchgessner et al. 1999).

Orexin-Neuronen im Hypothalamus wird eine Glucose wahrnehmende Eigenschaft zugeschrieben, dies trifft auch auf die enterisch gelegenen Orexin Neuronen zu. Diese Neuronen sorgen dafür, dass Orexin A, abhängig vom Glucosespiegel im Blut, aus den pankreatischen Inselzellen freigesetzt wird. Somit besitzt Orexin A eine modulierende Eigenschaft bezüglich Pankreashormonsekretion und Glucosekonzentration im Blut (Ouedrago et al. 2003).

Ähnlich zu der unter Orexin A reduzierten Glucosekonzentration zeigten sich auch die Laktatspiegel nach Gabe von Orexin vermindert. Es konnte gezeigt werden, dass Laktat, welches im Gehirn-Parenchym entsteht, zumindest teilweise für die Energieversorgung der Neuronen sorgen kann (Pellerin et al. 1994). Orexin Neurone im Speziellen beziehen den Großteil ihrer Energie über Laktat von Astrozyten. Orexin Neurone unterliegen folglich nicht nur dem Einfluss

der Glucosekonzentration, sondern auch die Effizienz der Konversion von Glucose zu Laktat spielt eine wichtige Rolle (Parsons et al. 2010).

Unter Orexin A Einfluss kam es zu einem akuten Anstieg der ACTH Konzentrationen, gefolgt von einer Erhöhung des Cortisolspiegels. Eine Auswirkung auf die gemessenen Konzentrationen von Wachstumshormon und NEFA blieb hingegen aus. In der Literatur finden sich Hinweise auf eine Beeinflussung der Nebennierenrindenfunktion und der Glucokortikoid- und Cortisol-Sekretion durch Orexin A (Malendowicz 1999, Mazzocchi 2001). Orexin A erhöht den ACTH Spiegel (Kuru et al. 2000) und stimuliert die CRH Expression (Al-Barazanji et al. 2001). Zusätzlich kommt es unter Orexin A zur stressinduzierten Aktivierung zentraler CRH-positiver Neuronen (Sakamoto et al. 2004).

In dieser Arbeit wurden die Cortisolwerte im Zusammenhang zum Glucosestoffwechsel im Rahmen des oGTT untersucht. Um noch genauere Aussagen bezüglich des Einflusses von Orexin auf den Cortisolspiegel treffen zu können, sind eventuell ein längerer Untersuchungszeitraum und ein Cortisol-Tagesprofil erforderlich.

4.2 Nahrungsaufnahme und Energiehaushalt

Anfangs wurde vermutet, dass Orexin A hauptsächlich zu einer vermehrten Nahrungsaufnahme führe (Sakurai et al. 1998). So wiesen Mäuse mit selektiv degenerierten Orexin Neuronen eine Hypophagie kombiniert mit Übergewicht auf (Hara et al. 2001): Diese transgenen Mäuse besaßen zusätzlich einen niedrigeren Energieumsatz mit deutlich reduziertem Aktivitätsniveau im Vergleich zu Wild-Typ Mäusen. Neuere Studien belegten, dass der Effekt von Orexin auf die Ernährung kurzfristiger angesiedelt ist. So zeigt sich, dass im Tiermodell die Applikation von Orexin A zwar eine vorübergehend schnellere Nahrungszufuhr zur Folge hatte, aber auf 24 Stunden gerechnet ein signifikanter Einfluss auf die Menge an zugeführter Nahrung ausblieb (Dhuria et al. 2016, Blais et al. 2017).

Tatsächlich ist die Funktion von Orexin A hinsichtlich Nahrungszufuhr und diesbezüglichem Antrieb weitaus komplexer. Orexin A enthaltende Neuronen finden sich hauptsächlich im lateralen Hypothalamus, ein Ort der besonders die

Nahrungsaufnahme reguliert und beeinflusst. Konsequenterweise erklärte man sich, dass die Zerstörung dieses Areals und der dort liegenden Orexin Neuronen zu Unterernährung führt (Preti 2002). Vorherige Studien belegen die kurzzeitig gesteigerte Nahrungszufuhr unter chronischen intrazerebralen Orexin A Injektionen, ohne jedoch Übergewicht zu verursachen (Novak et al. 2009). Somit kann selbst die kontinuierliche externe Zufuhr von Orexin A nicht das Gleichgewicht zwischen Energiehaushalt und Stoffwechsel überwinden (Yamanaka et al. 1999). Der Effekt der gesteigerten Nahrungszufuhr wird als kurzfristig angesehen (Sakurai et al. 1998). Ein akuter appetitanregender Effekt konnte auch in unseren Ergebnissen gezeigt werden, wonach die Probanden unter Orexin A ein signifikant erhöhtes Verlangen nach Nahrung aufwiesen. Es wird in diesem Zusammenhang eine Orexin bedingte Stimulation des Belohnungseffektes vermutet (Harris et al. 2005).

Dies alles gilt v.a. hinsichtlich der homöostatischen Bedürfnisse des Körpers. Nahrungsmittelkonsum jenseits dieser Bedürfnisse bezeichnet man als belohnungsbasiertes Verhalten und wird hauptsächlich von der Schmackhaftigkeit und Attraktivität des entsprechenden Nahrungsmittels bzw. Nährstoffes bedingt (Choi et al. 2010). Die Zufuhr von schmackhaftem Essen zeigt sich im Tiermodell unter Orexin A erhöht (Kay et al. 2014, Terrill et al. 2016). Zudem beeinflusst Orexin den Belohnungseffekt hinsichtlich der Nahrungsaufnahme (Muschamp et al. 2014). Im Gegensatz hierzu ließen die Kaloriendaten im Snacktest unter Orexin A keinerlei Rückschlüsse auf eine Beeinflussung der Nahrungsaufnahme zu. Vielmehr zeigten die Versuchsteilnehmer subjektiv ein insgesamt erhöhtes Verlangen nach Nahrung, ohne eine Präferenz für eine bestimmte Nahrungsgruppe aufzuweisen. Die unveränderte Makronährstoffzufuhr unter beiden Versuchsbedingungen lässt darauf schließen, dass die Nahrungsmittelzufuhr zentralen Mechanismen unterliegt, welche unabhängig von einer intranasalen Orexin-Gabe sind. Eine durch Belohnung gesteuerte und hierdurch vermehrte Nahrungszufuhr konnte in den Ergebnissen nicht festgestellt werden. Die standardisierte Mahlzeit vor dem Snacktest könnte den erwarteten Effekt auf die hedonistische Nahrungszufuhr allerdings maskiert haben.

In dieser Arbeit blieben die Effekte von Orexin A auf den Energieverbrauch bei gesunden Probanden aus. Im Tiermodell führten Injektionen von Orexin A im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zu einem erhöhten Energieumsatz (Lubkin et al. 1998) und gingen mit einer gesteigerten Thermogenese und Sympathikusaktivität einher (Monda et al. 2004). Im Kontext der Nahrungszufuhr ließ sich postprandial unter Orexin A ein Anstieg der Körpertemperatur feststellen. Hierbei können Veränderungen der postprandialen Thermogenese im Zusammenhang mit der Sympathikusaktivität den Energiehaushalt beeinflussen (Messina et al. 2014). Indem der Energieumsatz postprandial anstieg, könnte es bei unseren Ergebnissen zu Verschleierungen des Einflusses von Orexin A im Sinne eines Ceiling Effekts gekommen sein.

Das endogene Energieniveau hat Auswirkungen auf sowohl Metabolismus als auch Verhalten. Dem zugrunde liegen durch Glucose inhibierte Neuronen: Es konnte belegt werden, dass Orexin Neuronen auf den Glucosespiegel im Blut reagieren. Dementsprechend konnte unter Glucose Einfluss eine Inhibition von hypothalamischen Orexin Neuronen nachgewiesen werden (Burdakov et al. 2006). Unter Fastenbedingungen konnte im Tiermodell eine erhöhte Reaktionsbereitschaft beobachtet werden (Dewasmes et al. 1991). Die niedrigen Glucosespiegel führen zu einer Aktivierung der Orexin Neuronen, welche wiederum zu einem erhöhten Wachsamkeitszustand beitragen. Dieser wird für primitive Bedürfnisse wie die Nahrungssuche benötigt. Orexin Neuronen sorgen somit für eine Anpassung des Aktivitätsniveaus an Fastenbedingungen. Sie tragen essenziell dazu bei, dass Schlaf und Wachsamkeit reguliert werden und an metabolische Bedürfnisse angepasst werden (Yamanaka et al. 2003).

Zudem unterliegt der Orexinspiegel einer circadianen Dynamik. Es liegt nahe, dass der Zeitpunkt der Applikation den Effekt auf das Aktivitätsniveau beeinflusst (Desarnaud et al. 2004). Die morgendliche Applikation wie in unserem Experiment hätte eventuell über mehrere Tage erfolgen müssen, um eine messbare Veränderung zu erzielen. Möglicherweise war eine einmalige Gabe nicht ausschlaggebend.

Der menschliche Energiehaushalt steht auf zwei zentralen Säulen, welche konstanter Regulation unterliegen: Nahrungszufuhr und Energieverbrauch. Innerhalb des Hypothalamus konnten zwei Regionen in Verbindung mit Nahrungszufuhr und Regulation des Energiehaushalts gebracht werden; ventromedialer und lateraler Hypothalamus. Im Tiermodell konnte in Läsionsversuchen die vereinfachte Hypothese gestellt werden, dass der ventromedialer Hypothalamus eine wichtige Schaltstelle zuständig für Sättigkeit darstelle. Läsionen des lateralen Hypothalamus hatten eine verminderte Nahrungszufuhr und Gewichtsverlust zur Folge, der Schwerpunkt des lateralen Hypothalamus entspräche dann der Regulation der Nahrungsaufnahme (Oomura 1980; Sakurai et al. 1998). Die dort gelegenen Neuronen müssen somit in der Lage sein, Schwankungen im Blutglucosespiegel wahrzunehmen und darauf zu reagieren. Dementsprechend hatte eine durch Fasten induzierte Hypoglykämie eine Hochregulation der Präpro-Orexin mRNA und zeitweise eine gesteigerte Zufuhr an Nahrung zur Folge (Sakurai et al. 1998). Auch Insulin beeinflusst die Funktion der Neuronen im Hypothalamus. Eine durch Insulin induzierte Hypoglykämie führt gleichermaßen wie die durch Fasten induzierte Hypoglykämie zu einer Stimulation der Orexin Neuronen (Griffond et al. 1999).

Neuere Studienergebnisse zeigen, dass für die Aktivierung der Orexin Neurone nicht nur ein Zustand von Hypoglykämie vorliegen muss, sondern zusätzlich Katecholamine benötigt werden, um die Neurone zu aktivieren. Nur durch dieses Zusammenspiel, so die Hypothese, erfolge die Stimulation der Nahrungszufuhr in Reaktion auf Hypoglykämie (Li et al. 2015). Insgesamt spricht dies für längerfristige Regulationen des Körpers. Kurzfristige Veränderungen, wie in unserem Fall im Rahmen eines einmaligen oGTT haben vermutlich nur schlecht messbare Auswirkungen auf das Energieniveau.

Bezogen auf die Bioimpedanz Messung konnten keine signifikanten Effekte nachgewiesen werden. Die Probanden waren alle normal ernährt und hatten als Einschlusskriterium einen BMI von 20-25 kg/m². Effekte von Orexin A auf Unter- oder Mangelernährung wurden in der vorliegenden Arbeit nicht näher untersucht.

4.3 Olfaktion

Nicht nur der Nährstoffgehalt eines Nahrungsmittels, auch der olfaktorische Reiz beeinflusst die Entscheidung über den Konsum desselben. Das Gehirn verfügt über die Fähigkeit, die Wahrnehmung des sensorischen Reizes „Geruch“ entsprechend seiner Energiebedürfnisse zu regulieren und zu verändern (Duclaux et al. 1973, Gascuel et al. 2012).

Die Hypothese, dass Orexin Neuronen eine Rolle bei der Verarbeitung olfaktorischer Reize spielen, wurde bereits getestet und im Tiermodell bewiesen. Orexin A enthaltende Neuronen erhalten Signale aus dem olfaktorischen Kortex (Sakurai et al. 2005). Gleichzeitig senden sie Projektionen in den olfaktorischen Kortex und den Bulbus olfactorius aus (Peyron et al. 1998; Gascuel et al. 2012). Hinsichtlich der Orexin A Neuronen Faserdichte zeigte sich der Bulbus olfactorius zwar spärlich besiedelt, Orexin A ließ sich jedoch immunhistochemisch in jeder Ebene des Bulbus olfactorius nachweisen (Gascuel et al. 2012).

Ferner ist der Ernährungszustand in der Lage die Geruchswahrnehmung zu beeinflussen. Fasten führt zu einer erhöhten Aktionspotentialfrequenz von Neuronen im lateralen Hypothalamus und zu einer verbesserten Wahrnehmung von Gerüchen. Sättigungsgefühl nach isoliertem Konsum einer bestimmten Nährstoffklasse verringerte das Vermögen diesen speziellen Duft wahrnehmen zu können (Shiraishi 1988, O'Doherty et al. 2000, Palouzier-Paulignan et al. 2012). Im Rahmen des durchgeführten Geruchstests konnte in dieser Arbeit, im Gegensatz zu den Ergebnissen aus dem Tiermodell, keine deutliche Verbesserung des Geruchsvermögens der Probanden belegt werden. Hierbei zeigten sich unter Peptideinfluss keine signifikanten Veränderungen, und zwar weder bei der Schwellenwahrnehmung oder dem Diskriminationsvermögen verschiedener Gerüche noch bei der Fähigkeit, Gerüche zu identifizieren. Betrachtet man die erzielten Ergebnisse aus den Geruchstests, so ließ sich bei einem Teil der Versuchsteilnehmer ein längst eingeschränktes Geruchsvermögen feststellen, welches definitionsgemäß bereits einer Hyposmie entspricht (s. Einleitung).

Der besagte Probandenanteil zeigte eine leichte Verbesserung unter Peptideinfluss hinsichtlich der erzielten Leistung im Test der

Schwellendiskrimination. Auf welcher Ebene des olfaktorischen Systems hier die Orexin A Wirkung ausblieb konnte nicht weiter geklärt werden. Letztlich trat der Endeffekt des verbesserten Geruchsvermögens nicht auf. Ob die erwartete Verbesserung der Geruchsleistung unter Peptid Wirkung aufgrund des bereits eingeschränkten Geruchsvermögens eines Probandenanteils ausblieb oder ob die Wirkung im Bereich des bereits als Hyposmie bezeichneten Geruchsvermögen liegt, konnte hier nicht geklärt werden. Fest steht, dass Orexine und Nahrungsaufnahme in einem komplexen Zusammenspiel stehen, in welchem die Rolle der olfaktorischen Funktion nicht ausgeschlossen werden kann. Weitere Erforschung der Wirkung von Orexin A auf das Geruchsvermögen und die olfaktorische Bewertung von Nahrung sind angebracht.

4.4 Kognition und Vigilanz

Ein weiterer Aspekt im Zusammenhang mit dem Blutzuckerspiegel ist der Erregungs- bzw. Aufmerksamkeitszustand. Demgemäß führen verschiedene Glucosekonzentrationen im Blut zu variierenden Vigilanz-Graden und somit zur Erkenntnis, dass Orexine eine wichtige Stellschraube in der Regulation von Wachsamkeitszuständen spielen (Inutsuka et al. 2013). So zeigt sich, dass der Locus coeruleus eine Schlüsselrolle bezüglich der Modulation von Aufmerksamkeit einnimmt. Er weist eine äußerst dichte Innervation durch Orexin Neuronen auf. Dadurch kann durch die Gabe von Orexin A eine Steigerung des Wachsamkeitsniveaus erreicht werden. Dies bedeutet bezogen auf den Nahrungskreis ein höheres Aktivitätsniveau auch eine gesteigerte Bereitschaft zur Nahrungssuche (Hagan et al. 1999). Im Gegensatz dazu kam es in den erhobenen Angaben gegen Ende des Versuchstages zu einer zunehmenden Müdigkeit und Abgeschlagenheit. Es ist anzunehmen, dass hier die körpereigene Orexin-Produktion, welche zirkadianen Faktoren zu unterliegen scheint, eine Rolle spielt. Auch der Zeitpunkt der Orexin-Gabe scheint sich hierauf auszuwirken. Gegenteilig zu den tierexperimentellen Studien erfolgte die Applikation am Morgen und nicht zu Beginn der Ruhe- bzw. Schlafphase. Eine aktivitätssteigernde Wirkung bei ausgeruhten, wachen Probanden ließ sich zwar nicht nachweisen, allerdings könnte der Effekt eine Verschleierung durch das Ausgangsniveau erfahren haben. Die Ermüdung über den mehrstündigen Versuchsablauf mit repetitiven Tests kann auch teils in einem Mangel an neuen Stimuli begründet sein, welche auf neuronaler Ebene den Orexinstoffwechsel beeinflussen. Dementsprechend hat Orexin in diesem Experiment paradoxerweise zu erhöhter Müdigkeit geführt.

Betrachtet man die Ergebnisse, so fand sich in der Merkfähigkeit kein Hinweis auf eine Veränderung oder Verbesserung der Gedächtnisleistung durch Orexin A. Weder in der vorwärts noch in der rückwärts abgefragten Zahlenfolge konnten Unterschiede vermerkt werden. Auch die Vigilanzdaten sprechen kurzzeitig für eine erhöhte Müdigkeit. In der vorliegenden Arbeit waren sowohl die Genauigkeit als auch die Summe der korrekten Antworten unter Placebo einmalig signifikant verbessert. Hinsichtlich Reaktionsbereitschaft, -

geschwindigkeit und Präzision waren keine weiteren Effekte zu verzeichnen. Begründen lässt sich dies am ehesten durch eine kurzfristige Aktivierung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse zu Versuchsbeginn mit anschließend zunehmender Müdigkeit. Möglicherweise spielt auch mentale Erschöpfung bei diesen Aspekten eine Rolle.

Vergleichsweise wiesen Narkoleptiker in Vigilanztestungen eine verringerte Reaktionsbereitschaft und schlechtere Testleistung auf (Van Schie et al. 2016). Die Rolle von Orexin A bezüglich Wachsamkeit lässt sich mit den Ergebnissen in der vorliegenden Arbeit nochmals unterstreichen.

4.5 Kontrollmaße

Die gemessenen Kontrollparameter bezüglich des subjektiven Empfindens während der dynamisch veränderten Glucosekonzentrationen ergaben keine signifikanten Effekte. Die Probanden zeigten in ihren selbstreflektiven Angaben keine Hinweise auf depressives Verhalten oder anderweitige Beeinflussungen ihres Stimmungsbilds. Eine Aktivierung der HPA Achse und der Effekt „depressionsähnliches Verhalten“ ließen sich hier nicht darstellen.

Auch die Sympathikusaktivität steht im Zusammenhang zu Orexin A. In unseren Ergebnissen zeigte sich der systolische Blutdruck unmittelbar nach Verabreichung des Hormons leicht erhöht. Ein modulierender Effekt von Orexin A auf das kardiovaskuläre System und die Sympathikusaktivität wurde bereits in vergangenen Studien belegt (Nakabayashi et al. 2003, Shirasaka et al. 1999).

Orexin beeinflusst die Sympathikusaktivität, infolgedessen ließ sich im Tiermodell jeweils eine Hypertonie und Tachykardie feststellen (Shazid et al. 2011). Shirasaka et al. Beschrieben ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Orexin A und B und der Sympathikusaktivität auf das kardiovaskuläre System. Sie wiesen nach der intraventrikulären Applikation von Orexin A und B sowohl einen Anstieg des mittleren arteriellen Blutdrucks als auch der Herzfrequenz und der Katecholamine im Plasma nach (Shirasaka et al. 1999). In den erhobenen Daten ließ sich lediglich ein moderater Anstieg des systolischen Blutdrucks feststellen, wohingegen der diastolische Wert während des OGTT leicht gesenkt war. Nicht nur in der Regulation des kardiovaskulären Systems konnte ein

Zusammenhang zwischen Orexin A und Sympathikus nachgewiesen werden, auch in der Regulation des Glucosemetabolismus im Skelettmuskel zeigten sich Einflüsse von Orexin A. Über eine Aktivierung von β_2 -Adrenozeptoren, wurde eine Stimulierung des muskulären Glucosemetabolismus vermittelt (Shiuchi et al. 2009).

Alle Ergebnisse sprechen insgesamt für eine gesteigerte Wachsamkeit und Aktionsbereitschaft. Im Gegensatz hierzu kam es bei den Versuchsteilnehmern zu subjektiv erhöhten Müdigkeitserscheinungen. Studien zeigten, dass Orexin A Injektionen in den Nucleus ambiguus zur Aktivierung vagaler kardioinhibitorischer Neuronen führte und eine Bradykardie hervorriefen (Ciriello et al. 2003). Injektionen in den Nucleus tractus solitarii hatten einen gesteigerten Barorezeptor-Reflex zur Folge, mit deutlicher Bradykardie (de Oliveira et al. 2003). Hinsichtlich dieses Hintergrundes lassen sich die vorliegenden Ergebnisse als Hinweis auf eine Zeitkomponente in dem Zusammenspiel zwischen Orexin A und Sympathikusaktivität interpretieren. Demnach würde die Orexin A Wirkung mit einem initialen Anstieg der Aktivität der HPA Achse und des Blutdrucks beginnen, gefolgt von einem zeitlich versetzten Abfall von Wachsamkeit und Aktionsbereitschaft.

4.6 Limitationen

Um weitere Ergebnisse zu erzielen, ist eine höhere oder längere Hormongabe zu diskutieren. Nach einmaliger Applikation des Hormons und zunehmendem zeitlichen Abstand zu den verschiedenen Tests ist möglicherweise die Orexin A Wirkung zu kurz, um aussagekräftige Ergebnisse zu erlangen. So hätte z.B. ein früheres Keksbuffet, bzw. ein späterer olfaktorischer Test andere Resultate erzielt. Weitere Gründe wären eine höhere Dosierung oder eine Mehrfachapplikation. Intranasal appliziertes Orexin A ermöglicht eine Umgehung der Blut-Hirn-Schranke und eine rasche Anflutung im ZNS unter Umgehung des systemischen Kreislaufs (Dhuria et al. 2009). Die gemessene Orexinkonzentration im Blut lässt allerdings keine Rückschlüsse auf die Orexinkonzentration im Liquor zu (Kastin et al. 1999). Wenn auch schwer zu handhaben, wären über eine Liquorpunktion genauere Bestimmungen des

Orexinspiegels möglich gewesen.

Gleichermaßen konnte in vorherigen Studien ein Zusammenhang zwischen Orexin und Leptin nachgewiesen werden (Funato et al. 2009), allerdings wurden Leptinkonzentrationen in der vorliegenden Arbeit nicht untersucht. Es bleibt abzuwarten, ob die Stimulation des Orexin/Leptin-Signalwegs zu einer Revolutionierung der Diabetestherapie beizutragen vermag. Eine intranasale Applikation war bei Probanden erfolgt, die anamnestisch das Vorliegen intranasaler Pathologien verneint hatten. Eine genauere rhinologische Abklärung hätte unter Umständen mukosale Veränderungen aufzeigen können, die die Aufnahme von Orexin behinderten. Es bleibt offen, inwiefern die Auswahl des Probandenkollektivs möglicherweise die olfaktorischen Ergebnisse beeinflusste.

Gegenwärtig liegen nur sehr wenige Studien vor, die sich mit der Wirkung von Orexin A auf den menschlichen Organismus beschäftigen. Die in dieser Arbeit erbrachten Daten liefern einen ersten wichtigen Beleg dafür, dass dieses Neuropeptid eine förderliche Rolle in der Regulation des menschlichen Glucosestoffwechsels spielt, auch wenn die zugrunde liegenden Mechanismen aus diesen Befunden nicht abgeleitet werden können. Vor dem Hintergrund der gestiegenen Inzidenz von Insulinresistenz und Diabetes Typ 2 und der in bisherigen Studien festgestellten Nebenwirkungsfreiheit der intranasalen Gabe von Orexin A könnte diese Methode auch neue Möglichkeiten für zukünftige Interventionen zur Verbesserung des Glucosestoffwechsels eröffnen. Da die vorliegenden Experimente jedoch nur akute Wirkungen an gesunden Probanden erhoben, sind umfassende weitere Untersuchungen nötig.

5 Zusammenfassung

Die Orexine sind vor 20 Jahren erstmals beschriebene Neuropeptide, deren Einfluss auf den menschlichen Körper und seine Funktionen Gegenstand aktueller Forschungen ist. In der vorliegenden Studie wurde an 19 gesunden männlichen Probanden die Wirkung von Orexin A auf den Glucosestoffwechsel, Maße des Energieumsatzes sowie auf die olfaktorische Funktion untersucht. Im Tiermodell wurden den Orexinen glucoseregulierende Eigenschaften sowie aktivierende Effekte zugeschrieben, in dieser Arbeit wurde deshalb überprüft, inwiefern die vorbeschriebenen Ergebnisse sich auf den Menschen übertragen lassen.

Die Probanden wurden zu zwei Versuchstagen einbestellt, die im Abstand von mindestens 14 Tagen stattfanden. Nach ihrer Ankunft in nüchternem Zustand wurde mithilfe der bioelektrischen Impedanzanalyse ihre Körperzusammensetzung bestimmt, eine venöse Verweilkanüle gelegt und die Grundlinienwerte der Blutparameter und des Energieumsatzes gemessen. Im Anschluss wurde den Versuchsteilnehmern randomisiert und doppel-blind entweder Placebo oder Orexin A (500 nmol) intranasal verabreicht. Auf die Gabe des Nasensprays folgte nach 45 min. ein oraler Glucosetoleranztest (oGTT). Im Anschluss wurde der Energieumsatz erneut bestimmt. 60 min. nach dem Ende des oGTT erhielten die Probanden eine kleine herzhafte Zwischenmahlzeit, bevor die Aufnahme von Snacks gemessen wurde. In regelmäßigen Abständen wurde Blut abgenommen und der Blutdruck überprüft. Als Kontrollmaße dienten selbst eingeschätzte Stimmungsmaße sowie die psychometrisch erhobene Vigilanz.

Nach Gabe von Orexin A war der Glucosegipfel während des oGTT gedämpft, ebenfalls fielen erniedrigte Insulinkonzentrationen auf; entsprechend ergab sich nach Gabe von Orexin A im Vergleich zu Placebo eine Erhöhung der nach Cederholm berechneten Insulinsensitivität. Auch die Laktatkonzentration erwies sich nach Orexin-Gabe als verringert. In der Orexin-Bedingung kam es zu einem erhöhten Verlangen nach Nahrung bis zur Einnahme der Kontrollmahlzeit. Postprandial im Snacktest ergaben sich weder eine Präferenz noch eine

insgesamt gesteigerte Nahrungszufuhr. Auch der Energieumsatz unter Hormoneinfluss war nicht signifikant verändert. Olfaktorisch zeigte sich unter Orexin A keine signifikante Verbesserung. Dies war eventuell in der Auswahl des Probandenkollektivs mitbegründet, eine genauere Auswertung ergab eine überdurchschnittliche Hyposmie der Versuchsteilnehmer. Die Wachheit der Probanden erwies sich in der Orexin A-Bedingung überraschenderweise als abgesenkt, allerdings ohne zu einer nachweisbaren Vigilanzänderung in den Testergebnissen zu führen. Der systolische Blutdruckwert war initial leicht erhöht, während der diastolische Wert eine relative Dämpfung erfuhr. Die Herzfrequenz blieb unbeeinflusst.

Die erzielten Ergebnisse sprechen für eine verbesserte Glucosetoleranz und Insulinwirkung nach Gabe von Orexin A. Ein Einfluss auf die Geruchswahrnehmung konnte nicht belegt werden, kann jedoch auch nicht ausgeschlossen werden. Die Befunde weisen auf eine relevante Rolle von Orexin A in der Regulation von Stoffwechsel und Glucosehomöostase des Menschen hin. Gegenwärtig liegen nur sehr wenige interventionell-experimentelle Studien vor, die sich mit der Wirkung von Orexin A auf den menschlichen Organismus beschäftigen. Die in dieser Arbeit erbrachten Daten liefern einen ersten wichtigen Beleg dafür, dass dieses Neuropeptid eine förderliche Rolle in der Regulation des menschlichen Blutzuckerstoffwechsels spielt, auch wenn die zugrunde liegenden Mechanismen aus diesen Befunden nicht abgeleitet werden können. Vor dem Hintergrund der gestiegenen Inzidenz von Insulinresistenz und Typ-2-Diabetes und der in bisherigen Studien festgestellten Nebenwirkungsfreiheit der intranasalen Gabe von Orexin A könnte diese Methode auch neue Möglichkeiten für zukünftige Interventionen zur Verbesserung des Glucosestoffwechsels eröffnen. Da die vorliegenden Experimente jedoch nur akute Wirkungen an gesunden Probanden erhoben, sind umfassende weitere Untersuchungen nötig.

6 Literaturverzeichnis

- Al-Barazanji KA, Wilson S, Baker J, Jessop DS, Harbuz MS (2001). Central orexin-A activates hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stimulates hypothalamic corticotropin releasing factor and arginine vasopressin neurones in conscious rats. *J Neuroendocrinol* 13(5):421-4.
- Aimé P, Duchamp-Viret P, Chaput MA, Savigner A, Mahfouz M, Julliard AK. Fasting increases and satiation decreases olfactory detection for a neutral odor in rats. *Behav Brain Res.* 2007 May 16;179(2):258-64.
- Al Koborssy D, Palouzier-Paulignan B, Salem R, Thevenet M, Romestaing C, Julliard AK. Cellular and molecular cues of glucose sensing in the rat olfactory bulb. *Front Neurosci.* 2014 Oct 29;8:333.
- Baier PC, Weinhold SL, Huth V, Gottwald B, Ferstl R, Hinze-Selch D. Olfactory dysfunction in patients with narcolepsy with cataplexy is restored by intranasal Orexin A (Hypocretin-1). *Brain.* 2008 Oct;131(Pt 10):2734-41.
- Baier PC, Hallschmid M, Seeck-Hirschner M, Weinhold SL, Burkert S, Diessner N, Göder R, Aldenhoff JB, Hinze-Selch D. Effects of intranasal hypocretin-1 (orexin A) on sleep in narcolepsy with cataplexy. *Sleep Med.* 2011 Dec;12(10):941-6.
- Barateau L, Lopez R, Dauvilliers Y. Management of Narcolepsy. *Curr Treat Options Neurol.* 2016 Oct;18(10):43.
- Baumann CR, Khatami R, Werth E, Bassetti CL. Hypocretin (orexin) deficiency predicts severe objective excessive daytime sleepiness in narcolepsy with cataplexy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006 Mar;77(3):402-4.
- Berthoud HR Metabolic and hedonic drives in the neural control of appetite: who is the boss? *Curr Opin Neurobiol.* 2011 Dec;21(6):888-96
- Berthoud, Hans-Rudi; Münzberg, Heike The lateral hypothalamus as integrator of metabolic and environmental needs, *Physiol Behav.* 2011 Jul 25;104(1):29-39.
- Bingham S, Davey PT, Babbs AJ, Irving EA, Sammons MJ, Wyles M, Jeffrey P, Cutler L, Riba I, Johns A, Porter RA, Upton N, Hunter AJ, Parsons AA Orexin-A, an hypothalamic peptide with analgesic properties, *Pain Practice.* 1(4):375, DEC 2001
- Blais A, Drouin G, Chaumontet C, Voisin T, Couvelard A, Even PC, Couvineau A. Impact of Orexin-A Treatment on Food Intake, Energy Metabolism and Body Weight in Mice. *PLoS One.* 2017 Jan 13;12(1):e0169908. doi: 10.1371/journal.pone.0169908.
- Born J, Lange T, Kern W, McGregor GP, Bickel U, Fehm HL (2002) Sniffing neuropeptides: a transnasal approach to the human brain, *Nat Neurosci.* 2002 Jun;5(6):514-6.

- Bowden SC, Petrauskas VM, Bardenhagen FJ, Meade CE, Simpson LC. Exploring the dimensionality of digit span. *Assessment* 2013 Apr;20(2):188-98.
- Burdakov D, Jensen LT, Alexopoulos H, Williams RH, Fearon IM, O'Kelly I, Gerasimenko O, Fugger L, Verkhatsky A. Tandem-pore K⁺ channels mediate inhibition of orexin neurons by glucose. *Neuron*. 2006 Jun 1;50(5):711-22.
- Burghart Medizintechnik, Gebrauchsanleitung Sniffin' Sticks
- Canetti L, Bachar E, Berry EM Food and emotion. *Behav Processes*. 2002 Nov;60(2):157-164.
- Cai XJ, Widdowson PS, Harrold J, Wilson S, Buckingham RE, Arch JR, Tadayyon M, Clapham JC, Wilding J, Williams G. Hypothalamic orexin expression: modulation by blood glucose and feeding. *Diabetes*. 1999 Nov;48(11):2132-7.
- Cai XJ, Lister CA, Buckingham RE, Pickavance L, Wilding J, Arch JR, Wilson S, Williams G. Down-regulation of orexin gene expression by severe obesity in the rats: studies in Zucker fatty and Zucker diabetic fatty rats and effects of rosiglitazone, *Brain Res Mol Brain Res*. 2000 Apr 14;77(1):131-7.
- Caillol M, Aïoun J, Baly C, Persuy MA, Salesse R. Localization of orexins and their receptors in the rat olfactory system: possible modulation of olfactory perception by a neuropeptide synthesized centrally or locally. *Brain Res*. 2003 Jan 17;960(1-2):48-61.
- Cederholm J, Wibell L Insulin release and peripheral sensitivity at the oral glucose tolerance test. *Diabetes Res Clin Pract*. 1990 Oct;10(2):167-75.
- Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, Elmquist JK, Scammell T, Lee C, Richardson JA, Williams SC, Xiong Y, Kisanuki Y, Fitch TE, Nakazato M, Hammer RE, Saper CB, Yanagisawa M. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell*. 1999 Aug 20;98(4):437-51.
- Choi DL, Davis JF, Fitzgerald ME, Benoit SC. The role of orexin-A in food motivation, reward-based feeding behavior and food-induced neuronal activation in rats. *Neuroscience*. 2010 Apr 28;167(1):11-20.
- Ciriello J, de Oliveira CV. Cardiac effects of hypocretin-1 in nucleus ambiguus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003 Jun;284(6):R1611-20.
- Dahmen N, Tonn P, Messroghli L, Ghezel-Ahmadi D, Engel A. Basal metabolic rate in narcoleptic patients. *Sleep*. 2009 Jul;32(7):962-4.
- Danne, T, Kordonouri, O, Lange, K *Kompendium pädiatrische Diabetologie* 2016, S 19-76
- Data Input: Geräte, Software und Seminare zur Bioelektrischen Impedanz Analyse BIA. <http://www.data-input.de/bia/deutsch/startseite.php> (Zugriff 10.08.2017)

Data Input GmbH, Gebrauchsanleitung Nutriguard-M

Data Input GmbH, Das B.I.A.-Kompendium 3. Ausgabe, 2009, https://www.data-input.de/media/pdf-deutsch/Kompendium_III_Ausgabe_2009.pdf (Zugriff 10.08.2017)

Davidson, St., Passmore, R. and Brock, J. F. Human Nutrition and Dietetics, p. 28 5th Ed. Churchill Livingstone, Edinburgh and London (1973)

De Lecea, L., Kilduff, T. S., Peyron, C., Gao, X., Foye, P. E., Danielson, P. E., et al. (1998). The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 322–327.

De Oliveira CV, Rosas-Arellano MP, Solano-Flores LP, Ciriello J. Cardiovascular effects of hypocretin-1 in nucleus of the solitary tract. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003 Apr;284(4):H1369-77.

Desarnaud F, Murillo-Rodriguez E, Lin L et al The diurnal rhythm of hypocretin in young and old F344 rats. *Sleep* 2004;27:851–856

Dewasmes G, Duchamp C, Bothorel B, Candas V. Sleep changes in fasting rats after chronic glycerol feeding. *Physiol Behav.* 1991 Sep;50(3):537-41.

Dhuria SV, Hanson LR, Frey WH 2nd. Intranasal drug targeting of hypocretin-1 (orexin-A) to the central nervous system, *Journal of Pharmaceutical Sciences* Volume 98, Issue 7, July 2009, Pages 2501-2515

Diekelmann S., Büchel C., Born J., Rasch B. Labile or stable: opposing consequences for memory when reactivated during waking and sleep *Nat. Neurosci.*, 14 (2011), pp. 381-386

Dube, Michael G.; Kalra, Satya P.; Kalra, Pushpa S. Food intake elicited by central administration of orexins/hypocretins: identification of hypothalamic sites of action, *Brain Research* Volume 842, Issue 2, 25 September 1999, Pages 473-477

Duclaux R, Feisthauer J, Cabanac M. [Effects of a meal on the pleasantness of food and nonfood odors in man]. *Physiol Behav.* 1973 Jun;10(6):1029-33. French.

Ducroc R, Voisin T, El Firar A, Laburthe M. Orexins control intestinal glucose transport by distinct neuronal, endocrine, and direct epithelial pathways, *Diabetes.* 2007 Oct;56(10):2494-500. Epub 2007 Jul 12.

Ehrström M, Näslund E, Levin F, Kaur R, Kirchgessner AL, Theodorsson E, Hellström PM Pharmacokinetic profile of orexin A and effects on plasma insulin and Glukagon in the rat *Regulatory Peptides* Volume 119, Issue 3, 15 July 2004, Pages 209-212

El Messari S, Leloup C, Quignon M, Brisorgueil MJ, Penicaud L, Arluison M. Immunocytochemical localization of the insulin-responsive glucose transporter 4 (Glut4) in the rat central nervous system. *J Comp Neurol.* 1998 Oct 5;399(4):492-512.

- Erlanger, Joseph Studies in Blood Pressure Estimation by Indirect Methods, part I Am. J. Physiol 40: 401-447 (1916)
- Forman EM, Hoffman KL, McGrath KB, Herbert JD, Brandsma LL, Lowe MR. A comparison of acceptance- and control-based strategies for coping with food cravings: an analog study. Behav Res Ther. 2007 Oct;45(10):2372-86.
- Fortuyn HA, Swinkels S, Buitelaar J, Renier WO, Furer JW, Rijnders CA, Hodiament PP, Overeem S. High prevalence of eating disorders in narcolepsy with cataplexy: a case-control study. Sleep. 2008 Mar;31(3):335-41.
- Funato H, Tsai AL, Willie JT, Kisanuki Y, Williams SC, Sakurai T, Yanagisawa M. Enhanced orexin receptor-2 signaling prevents diet-induced obesity and improves leptin sensitivity. Cell Metab. 2009 Jan 7;9(1):64-76.
- Ganong, W.: Medizinische Physiologie, bearbeitet von Auerswald, W, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1971), S. 447.
- Gascuel J, Lemoine A, Rigault C, Datiche F, Benani A, Penicaud L, Lopez-Mascaraque L. Hypothalamus-olfactory system crosstalk: orexin a immunostaining in mice. Front Neuroanat. 2012 Nov 8;6:44.
- Griffond B, Risold PY, Jacquemard C, Colard C, Fellmann D. Insulin-induced hypoglycemia increases preprohypocretin (orexin) mRNA in the rat lateral hypothalamic area. Neurosci Lett. 1999 Mar 5;262(2):77-80.
- Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, Evans ML, Wattam TA, Holmes S, Benham CD, Taylor SG, Routledge C, Hemmati P, Muntun RP, Ashmeade TE, Shah AS, Hatcher JP, Hatcher PD, Jones DN, Smith MI, Piper DC, Hunter AJ, Porter RA, Upton N. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1999 Sep 14;96(19):10911-6
- Hallschmid M, Higgs S, Thienel M, Ott V, Lehnert H. Postprandial administration of intranasal insulin intensifies satiety and reduces intake of palatable snacks in women. Diabetes. 2012 Apr;61(4):782-9.
- Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. Neuron. 2001 May;30(2):345-54.
- Hao YY, Yuan HW, Fang PH, Zhang Y, Liao YX, Shen C, Wang D, Zhang TT, Bo P. Plasma orexin-A level associated with physical activity in obese people. Eat Weight Disord. 2017 Mar;22(1):69-77.
- Hara J, Beuckmann CT, Nambu T, Willie JT, Chemelli RM, Sinton CM, Sugiyama F, Yagami K, Goto K, Yanagisawa M, Sakurai T. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity. Neuron. 2001 May;30(2):345-54.
- Harris GC, Wimmer M, Aston-Jones G. A role for lateral hypothalamic orexin

- neurons in reward seeking. *Nature*. 2005 Sep 22;437(7058):556-9.
- Haynes AC, Chapman H, Taylor C, Moore GB, Cawthorne MA, Tadayyon M, Clapham JC, Arch JR. Anorectic, thermogenic and anti-obesity activity of a selective orexin-1 receptor antagonist in ob/ob mice. *Regul Pept*. 2002 Mar 15;104(1-3):153-9.
- Heinonen MV, Purhonen AK, Mäkelä KA, Herzig KH. Functions of orexins in peripheral tissues. *Acta Physiol (Oxf)*. 2008 Apr;192(4):471-85.
- Higgs S, Williamson AC, Attwood AS. Recall of recent lunch and its effect on subsequent snack intake. *Physiol Behav*. 2008 Jun 9;94(3):454-62.
- Ho C-Y, Berridge KC. An orexin hotspot in ventral pallidum amplifies hedonic 'liking' for sweetness. *Neuropsychopharmacology*. 2013 Aug;38(9):1655-64.
- Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A. Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects, *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, March 2007, Volume 264, Issue 3, pp 237–243
- Inutsuka A, Yamanaka A. The physiological role of orexin/hypocretin neurons in the regulation of sleep/wakefulness and neuroendocrine functions. *Frontiers in endocrinology* 2013 Mar 6;4:18.
- Jones NS, Quraishi S, Mason JD. The nasal delivery of systemic drugs. *Int J Clin Pract*. 1997 Jul-Aug;51(5):308-11. Review.
- Julliard AK, Chaput MA, Apfelbaum A, Aimé P, Mahfouz M, Duchamp-Viret P. Changes in rat olfactory detection performance induced by orexin and leptin mimicking fasting and satiation. *Behav Brain Res*. 2007 Nov 2;183(2):123-9.
- Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmałek E, Sassek M, Kolodziejcki PA, Billert M, Szczepankiewicz D, Wojciechowicz T, Maechler P, Nowak KW, Strowski MZ. Chronic orexin-A (hypocretin-1) treatment of type 2 diabetic rats improves glucose control and beta-cell functions. *J Physiol Pharmacol*. 2017 Oct;68(5):669-681.
- Kane JK, Tanaka H, Parker SL, Yanagisawa M, Li MD. Sensitivity of orexin-A binding to phospholipase C inhibitors, neuropeptide Y, and secretin *Biochem Biophys Res Commun*. 2000 Jun 16;272(3):959-65.
- Kalsbeek A, Yi CX, La Fleur SE, Fliers E The hypothalamic clock and its control of glucose homeostasis. *Trends Endocrinol Metab* 2010;21:402–410
- Kastin AJ, Akerstrom V. Orexin A but not orexin B rapidly enters brain from blood by simple diffusion. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999 Apr;289(1):219-23.
- Kay K, Parise EM, Lilly N, Williams DL. Hindbrain orexin 1 receptors influence palatable food intake, operant responding for food, and food-conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014 Jan;231(2):419-27.

- Kirchgessner AL, Liu M. Orexin synthesis and response in the gut. *Neuron*. 1999 Dec;24(4):941-51.
- Kohlmeier KA, Inoue T, Leonard CS. Hypocretin/orexin peptide signaling in the ascending arousal system: elevation of intracellular calcium in the mouse dorsal raphe and laterodorsal tegmentum. *J Neurophysiol*. 2004 Jul;92(1):221-35
- Kobal G, Klimek L, Wolfensberger M, Gudziol H, Temmel A, Owen CM, Seeber H, Pauli E, Hummel T 2000 Multicenter investigation of 1,036 subjects using a standardized method for the assessment of olfactory function combining tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2000, 257(4), 205-211
- Kunz, I. Energiestoffwechsel bei Adipositas und Adipositas-assoziiierter Hypertonie. *Med. Diss. Berlin* 1999
- Kuru M, Ueta Y, Serino R, Nakazato M, Yamamoto Y, Shibuya I, Yamashita H. Centrally administered orexin/hypocretin activates HPA axis in rats. *Neuroreport*. 2000 Jun 26;11(9):1977-80.
- Lee, M.G., Hassani, O.K. & Jones, B.E. 2005. Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep-waking cycle. *J Neurosci* 25, 6716–6720.
- Li AJ, Wang Q, Elsarelli MM, Brown RL, Ritter S. Hindbrain Catecholamine Neurons Activate Orexin Neurons During Systemic Glucoprivation in Male Rats. *Endocrinology*. 2015 Aug;156(8):2807-20.
- Lowe MR, Butryn ML, Didie ER, Annunziato RA, Thomas JG, Crerand CE, Ochner CN, Coletta MC, Bellace D, Wallaert M, Halford J. The Power of Food Scale. A new measure of the psychological influence of the food environment. *Appetite*. 2009 Aug;53(1):114-8.
- Lu XY, Bagnol D, Burke S, Akil H, Watson SJ (2000) Differential distribution and regulation of OX1 and OX2 orexin/hypocretin receptor messenger RNA in the brain upon fasting. *HormBehav* 37: 335-344.
- Lubkin, M., and Stricker-Krongrad, A. Independent feeding and metabolic actions of orexins in mice *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 Dec 18;253(2):241-5
- Malendowicz LK, Tortorella C, Nussdorfer GG. Orexins stimulate corticosterone secretion of rat adrenocortical cells, through the activation of the adenylate cyclase-dependent signaling cascade. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1999 Sep-Oct;70(4-6):185-8.
- Marcus, J. N., Aschkenasi, C. J., Lee, C. E., Chemelli, R. M., Saper, C. B., Yanagisawa, M., et al. (2001). Differential expression of orexin receptors 1 and 2 in the rat brain. *J. Comp. Neurol*. 435, 6–25.
- Martinez-Rodriguez JE, Lin L, Iranzo A, Genis D, Marti MJ, et al. 2003. Decreased hypocretin-1 (orexin-A) levels in the cerebrospinal fluid of patients

- with myotonic dystrophy and excessive daytime sleepiness. *Sleep* 26:287–90
- Mayer, Gerd. *Narkolepsie, Taschenatlas spezial* Georg Thieme Verlag 2006; 2-9
- Mazzocchi G, Malendowicz LK, Gottardo L, Aragona F, Nussdorfer GG. Orexin A stimulates cortisol secretion from human adrenocortical cells through activation of the adenylate cyclase-dependent signaling cascade. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Feb;86(2):778-82.
- Messina G, Dalia C, Tafuri D, Monda V, Palmieri F, Dato A, Russo A, De Blasio S, Messina A, De Luca V, Chieffi S, Monda M. Orexin-A controls sympathetic activity and eating behavior. *Front Psychol.* 2014 Sep 8;5:997.
- Mizuno Y, Oomura Y: Glucose responding neurons in the nucleus tractus solitarius of the rat: in vitro study. *Brain Res* 30 : 109 –116,1984
- Monda M, Viggiano A, Viggiano A, Fuccio F, De Luca V. Clozapine blocks sympathetic and thermogenic reactions induced by orexin A in rat. *Physiol Res.* 2004;53(5):507-13.
- Muroya S, Funahashi H, Yamanaka A, Kohno D, Uramura K, Nambu T, Shibahara M, Kuramochi M, Takigawa M, Yanagisawa M, Sakurai T, Shioda S, Yada T. Orexins (hypocretins) directly interact with neuropeptide Y, POMC and glucose-responsive neurons to regulate Ca²⁺ signaling in a reciprocal manner to leptin: orexigenic neuronal pathways in the mediobasal hypothalamus. *Eur J Neurosci.* 2004 Mar;19(6):1524-34.
- Muschamp JW, Hollander JA, Thompson JL, Voren G, Hassinger LC, Onvani S, Kamenecka TM, Borgland SL, Kenny PJ, Carlezon WA Jr. Hypocretin (orexin) facilitates reward by attenuating the anti-reward effects of its cotransmitter dynorphin in ventral tegmental area. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014 Apr 22;111(16):E1648-55.
- Nakabayashi M, Suzuki T, Takahashi K, Totsune K, Muramatsu Y, Kaneko C, Date F, Takeyama J, Darnel AD, Moriya T, Sasano H. Orexin-A expression in human peripheral tissues. *Mol Cell Endocrinol.* 2003 Jul 31;205(1-2):43-50.
- Nambu, T., Sakurai, T., Mizukami, K., Hosoya, Y., Yanagisawa, M., and Goto, K. (1999). Distribution of orexin neurons in the adult rat brain. *Brain Res.* 827,243–260.
- Nettersheim A, Hallschmid M, Born J, Diekelmann S. The role of sleep in motor sequence consolidation: stabilization rather than enhancement. *J Neurosci.* 2015;35:6696–6702.
- Nishino S., Ripley B., Overeem S., Lammers G. J., Mignot E. (2000). Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *Lancet* 355, 39–40. 10.1016/S0140-6736(99)05582-8
- Nowak KW, Maćkowiak P, Switońska MM, Fabiś M, Malendowicz LK. *Life*

Sciences Volume 66, Issue 5, 17 December 1999, Pages 449-454

- Novak CM, Levine JA. Daily intraparaventricular orexin-A treatment induces weight loss in rats. *Obesity (Silver Spring)*. 2009 Aug;17(8):1493-8.
- O'Doherty J, Rolls ET, Francis S, Bowtell R, McGlone F, Kobal G, Renner B, Ahne G. Sensory-specific satiety-related olfactory activation of the human orbitofrontal cortex. *Neuroreport*. 2000 Mar 20;11(4):893-7.
- Oomura, Y. Input-output organization in the hypothalamus relating to food intake behavior. In *Handbook of the Hypothalamus, Volume 2: Physiology of the Hypothalamus*, P.J. Morgane and J. Panksepp, eds. (New York: Marcel Dekker), pp. 557-620. (1980)
- Ouedraogo R, Näslund E, Kirchgessner AL. Glucose regulates the release of orexin-a from the endocrine pancreas. *Diabetes*. 2003 Jan;52(1):111-7.
- Park JH, Shim HM, Na AY, Bae JH, Im SS, Song DK. Orexin A regulates plasma insulin and leptin levels in a time-dependent manner following a glucose load in mice. *Diabetologia*. 2015 Jul;58(7):1542-50.
- Parsons MP, Hirasawa M. ATP-sensitive potassium channel-mediated lactate effect on orexin neurons: implications for brain energetics during arousal. *J Neurosci*. 2010 Jun 16;30(24):8061-70.
- Palouzier-Paulignan B, Lacroix MC, Aimé P, Baly C, Caillol M, Congar P, Julliard AK, Tucker K, Fadool DA. Olfaction under metabolic influences. *Chem Senses*. 2012 Nov;37(9):769-97.
- Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 Oct 25;91(22):10625-9.
- Peyron C, Tighe DK, van den Pol AN, de Lecea L, Heller HC, Sutcliffe JG, Kilduff TS. Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems. *J Neurosci*. 1998 Dec 1;18(23):9996-10015.
- Peyron C, Faraco J, Rogers W, Ripley B, Overeem S, Charnay Y, Nevsimalova S, Aldrich M, Reynolds D, Albin R, Li R, Hungs M, Pedrazzoli M, Padigaru M, Kucherlapati M, Fan J, Maki R, Lammers GJ, Bouras C, Kucherlapati R, Nishino S, Mignot E. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains, *Nat Med*. 2000 Sep;6(9):991-7.
- Poli F, Plazzi G, Di Dalmazi G, Ribichini D, Vicennati V, Pizza F, Mignot E, Montagna P, Pasquali R, Pagotto U. Body mass index-independent metabolic alterations in narcolepsy with cataplexy. *Sleep*. 2009 Nov;32(11):1491-7.
- Preti A. Orexins (hypocretins): their role in appetite and arousal. *Current opinion in investigational drugs* 2002 Aug;3(8):1199-206.
- Pirlich M, Norman K. Bestimmung der Körperzusammensetzung. In: *Ernährungsmedizin (Biesalski HK, Bischoff SC, Puchstein C, Hsg.)*, Georg

Thieme Verlag, Stuttgart;2010.

- Rasch, B., Friese, M., Hofmann, W., Naumann, E. Quantitative Methoden. Band 2 (2. Auflage) Einführung in die Statistik für Psychologen und Sozialwissenschaftler Heidelberg: Springer.
- Rehner, G.; Daniel H. Biochemie der Ernährung 2010, S 177-198, XXV, 605S., Hardcover Springer
- Ripley B, Overeem S, Fujiki N, Nevsimalova S, Uchino M, et al. 2001. CSF hypocretin/orexin levels in narcolepsy and other neurological conditions. *Neurology* 57:2253–58
- Sakamoto F, Yamada S, Ueta Y. Centrally administered orexin-A activates corticotropin-releasing-factor-containing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and central amygdaloid nucleus of rats: possible involvement of central orexins on stress-activated central CRF neurons. *Regul Pept.* 2004 May 15;118(3):183-91.
- Sakurai,T.,Amemiya,A.,Ishii,M.,Matsuzaki, I., Chemelli, R. M., Tanaka, H., etal. (1998). Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G proteincoupled receptors that regulate feeding behavior. *Cell* 92,573–585
- Sakurai T, Nagata R, Yamanaka A, Kawamura H, Tsujino N, Muraki Y, Kageyama H, Kunita S, Takahashi S, Goto K, Koyama Y, Shioda S, Yanagisawa M. Input of orexin/hypocretin neurons revealed by a genetically encoded tracer in mice. *Neuron.* 2005 Apr 21;46(2):297-308. Erratum in: *Neuron.* 2005 Jun 2;46(5):837.
- Sakurai, T. 2007. The neural circuit of orexin (hypocretin): maintaining sleep and wakefulness. *Nature reviews. Neuroscience.* 8, 171–181.
- Saper CB, Chou TC, Elmquist JK. The need to feed: homeostatic and hedonic control of eating. *Neuron.* 2002 Oct 10;36(2):199-211. Review.
- Sellayah D, Sikder D. Orexin receptor-1 mediates brown fat developmental differentiation. *Adipocyte.* 2012 Jan 1;1(1):58-63.
- Shahid IZ, Rahman AA, Pilowsky PM. Intrathecal orexin A increases sympathetic outflow and respiratory drive, enhances baroreflex sensitivity and blocks the somato-sympathetic reflex. *Br J Pharmacol.* 2011 Feb;162(4):961-73.
- Shiraishi T. Feeding related lateral hypothalamic neuron responses to odors depend on food deprivation in rats. *Physiol Behav.* 1988;44(4-5):591-7. Review.
- Shirasaka T, Nakazato M, Matsukura S, Takasaki M, Kannan H. Sympathetic and cardiovascular actions of orexins in conscious rats. *Am J Physiol.* 1999 Dec;277 (6 Pt 2):R1780-5.
- Shiuchi T, Haque MS, Okamoto S, Inoue T, Kageyama H, Lee S, Toda C, Suzuki A, Bachman ES, Kim YB, Sakurai T, Yanagisawa M, Shioda S, Imoto K, Minokoshi Y. Hypothalamic orexin stimulates feeding-associated glucose

- utilization in skeletal muscle via sympathetic nervous system, *Cell Metab.* 2009 Dec;10(6):466-80.
- Smart, D.; Sabido-David, C.; Brough, S. J.; Jewitt, F.; Johns, A.; Porter, R. A.; Jerman, J. C. SB-334867-A: The first selective orexin-1 receptor antagonist, *Br J Pharmacol.* 2001 Mar; 132(6): 1179–1182.
- Stetter KR, McCann LI, Leafgren MA, Segar MT. Diet preference in rats (*Rattus norvegicus*) as a function of odor exposure, odor concentration, and conspecific presence. *J Comp Psychol.* 1995 Dec;109(4):384-389.
- Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P. & Eid, M. Der Mehrdimensionale Befindlichkeitsfragebogen (MDBF). Handanweisung. Göttingen: Hogrefe, 1997, S.7
- Stoll, Wolfgang. *Klinik der menschlichen Sinne (44-45)* 2008 Springer Verlag
- Sudo M, Minokoshi Y, Shimazu T (1991) Ventromedial hypothalamic stimulation enhances peripheral glucose uptake in anesthetized rats. *Am J Physiol* 261: E298-303.
- Sweet, Donald C.; Levine, Allen S.; Billington, Charles J.; Kotz, Catherine M. Feeding response to central orexins, *Brain Res.* 1999 Mar 13;821(2):535-8.
- Terrill SJ, Hyde KM, Kay KE, Greene HE, Maske CB, Knierim AE, Davis JF, Williams DL. Ventral tegmental area orexin 1 receptors promote palatable food intake and oppose postingestive negative feedback. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2016 Sep 1;311(3):R592-9.
- Tsujino N, Sakurai T. Orexin/hypocretin: a neuropeptide at the interface of sleep, energy homeostasis, and reward system. *Pharmacol Rev.* 2009 Jun;61(2):162-76.
- Tsuneki H, Murata S, Anzawa Y, Soeda Y, Tokai E, Wada T, Kimura I, Yanagisawa M, Sakurai T, Sasaoka T. Age-related insulin resistance in hypothalamus and peripheral tissues of orexin knockout mice, *Diabetologia.* 2008 Apr;51(4):657-67. doi: 10.1007/s00125-008-0929-8. Epub 2008 Feb 7.
- Tsuneki, H., Wada, T. and Sasaoka, T. Role of orexin in the regulation of glucose homeostasis, *Acta Physiol (Oxf).* 2010 Mar;198 (3):335-348.
- Tucker K, Cavallin MA, Jean-Baptiste P, Biju KC, Overton JM, Pedarzani P, Fadool DA. The Olfactory Bulb: A Metabolic Sensor of Brain Insulin and Glucose Concentrations via a Voltage-Gated Potassium Channel. *Results Probl Cell Differ.* 2010;52:147-57.
- Van den Pol AN, Hypothalamic hypocretin (orexin): robust innervation of the spinal cord, *Journal of Neuroscience* 15 April 1999, 19 (8) 3171-3182
- Van Holst RJ, van der Crujisen L, van Mierlo P, Lammers GJ, Cools R, Overeem S, Aarts E. Aberrant Food Choices after Satiety in Human Orexin-Deficient Narcolepsy Type 1. *Sleep.* 2016 Nov 1;39(11):1951-1959.
- Van Schie MK, Werth E, Lammers GJ, Overeem S, Baumann CR, Fronczek R.

- Improved vigilance after sodium oxybate treatment in narcolepsy: a comparison between in-field and in-laboratory measurements. *J Sleep Res.* 2016 Aug;25(4):486-96.
- Wang J, Osaka T, Inoue S. Energy expenditure by intracerebroventricular administration of orexin to anesthetized rats, *Neurosci Lett.* 2001 Nov 23;315(1-2):49-52
- WHO,<http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi> (Zugriff 22.11.2017)
- Yamada H, Okumura T, Motomura W, Kobayashi Y, Kohgo Y. Inhibition of food intake by central injection of anti-orexin antibody in fasted rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Jan 19;267(2):527-31.
- Yamanaka A, Sakurai T, Katsumoto T, Yanagisawa M, Goto K. Chronic intracerebroventricular administration of orexin-A to rats increases food intake in daytime, but has no effect on body weight. *Brain Res.* 1999 Dec 4;849(1-2):248-52.
- Yamanaka, A., Beuckmann, C.T., Willie, J.T., Hara, J., Tsujino, N., Mieda, M., Tominaga, M., Yagami, K., Sugiyama, F., Goto, K., Yanagisawa, M. & Sakurai, T. 2003a. Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice. *Neuron* Volume 38, Issue 5, p701–713, 5 June 2003
- Zarifkar M, Noshad S, Shahriari M, Afarideh M, Khajeh E, Karimi Z, Ghajar A, Esteghamati A. Inverse Association of Peripheral Orexin-A with Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Clinical Trial. *Rev Diabet Stud.* 2017 Summer-Fall;14(2-3):301-310.
- Zlokovic BV. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron.* 2008 Jan 24;57(2):178-201.

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde im Institut für medizinische Psychologie und Verhaltensneurobiologie der Universität Tübingen unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Manfred Hallschmid durchgeführt.

Die Konzeption der Versuche erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Matthias Thienel. Die Versuche wurden (nach Einarbeitung durch Herrn Dr. Matthias Thienel und unter initialer Aufsicht von Frau Apostolia Lamprinou) von mir eigenständig durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte nach Anleitung durch Herrn Dr. Matthias Thienel durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig (nach Anleitung durch Herrn Prof. Dr. Manfred Hallschmid) verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 22.12.2020

Tamara Elsässer

Danksagung

Ich möchte an dieser Stelle Prof. Dr. Manfred Hallschmid herzlich für die Überlassung des Themas dieser Dissertation danken. Insbesondere möchte ich mich hier für die Möglichkeit diese Studie durchzuführen, die hilfsbereite Unterstützung und ausgezeichnete Betreuung sowie für die wertvollen Anregungen bis zur Fertigstellung dieser Arbeit bedanken.

Bei Dr. Matthias Thienel möchte ich mich für die Hilfe bei der Einarbeitung in die verwendeten Gerätschaften und bei der statistischen Auswertung bedanken.

An Dr. med Apostolia Lamprinou geht mein Dank für ihre Unterstützung und während der Hormongabe. Genauso an Ilona Sauter für ihre Hilfe und Bereitschaft zur Bereitstellung der verschiedenen benötigten Lösungen.

Weiter bedanke ich mich bei allen Versuchsteilnehmern für ihre Teilnahme und Mitarbeit an dieser Studie.

Besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich ermutigte diese Arbeit fertig zu stellen.